

**Bedeutung von Polymorphismen des angeborenen Immunsystems
(NOD2) für
das Auftreten infektiologischer
Komplikationen bei Patienten mit akuter
myeloischer Leukämie**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von
Olaposi Lawrence Yomade
geboren am 17.01.1967
in Ile-Ife, Nigeria

Gutachter:

1. PD Dr. Sebastian Scholl, Jena

2. PD Dr. Bernd Gruhn, Jena

3. Prof. Dr. Dominik Wolf, Bonn

Tag der öffentlichen Verteidigung: 03 Dezember, 2013 in Jena

Meiner Familie
in Liebe und Dankbarkeit gewidmet.

Abkürzungsverzeichnis

a.e	am ehesten
AF-1	Activating Factor 1
ALL	akute lymphatische Leukämie
AML	akute myeloische Leukämie
ATF2	Activating Transcription Factor 2
APL	akute Promyelozyten leukämie
ATRA	all- <i>trans</i> retinoic acid
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BIR	Baculoviral inhibitor of apoptosis repeats
bspw	beispielsweise
CARDs	Caspase Recruitment Domains
CAPS	Cryopyrin/NLRP3-associated periodic syndroms
CEBPA	CCAAT/enhancer-binding protein alpha
clAP	Cellular Inhibitors of Apoptosis
CIITA	Class II transactivator
CLRs	C-Type Lectin-Rezeptoren
CT	Computertomogramm
DAMPs	Damage associated molecular patterns
DNA	deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
ELISA	Enzyme-linked immuno sorbent assay
ELK-1	Ets-like Protein 1(Ets: E-twenty six)
FLT-3	FMS-like tyrosine kinase-3
FUO	Fever of unknown origin
GvHD	Graft versus host disease (Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion)
HSPs	Heat shock proteins (Hitzeschockproteine)
HLA	Human leukocyte antigen
HSV	Human simplex-Virus
IDSA	Infectious Disease Society of America
IFN	Interferon

IκB	Inhibitor of NFκappa B
IKK	Inhibitor of NFκappa B-Kinase
IRF	Interferon Regulatory factor
ITD	interne Tandem-Duplikation
JNK	c-Jun NH (2)-terminal protein Kinase
LRRs	Leucine rich repeats
MAPKs	Mitogen activated protein-kinases
MAVs	Mitochondrial antiviral signalling protein
MDP	Muramyl dipeptide
MDR	Multidrug resistance
MDS	myelodysplastisches Syndrom
MLL	Mixed linear lineage
NACHT	<u>Naip</u> , <u>CIITA</u> , <u>HET-E</u> (plant het product involved in vegetative incompatibility) und <u>TP-1</u> (telomerase-associated protein 1)
NEMO	NF- kappa B essential modulator
NF-κB	Transkriptionsfaktor
NLRs	NOD-like receptors
NLRP3	NOD LRR and pyrin domain-containing 3
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
NOD	nucleotide binding oligomerization domain
NPM	Nucleophosmin
PAMPs	Pathogen-associated molecular patterns
PGs	Peptidoglycans (Peptidoglykane)
PRMs	Pattern recognition molecules
PYG	Pyridin domain
RBM15-MLK1	RNA-binding motif protein-15-megakaryoblastic leukemia factor-1 fusion protein
RIP2	Receptor-interacting serin/threonine kinase 2
RNA	Ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
RPN1-EV11	Ribophorin1- ecotropic virus integration site 1 fusion gene
RUNX1	Runt-related transcription factor 1

RUNX1T1	RUNX1 translocated to 1(cyclin D related)
RSV	Respiratory-Syncytial-Virus
s-AML	sekundäre AML
SNPs	Single nucleotide polymorphisms
ss	single strand
TAK	Transforming growth factor beta-activated kinase
t-AML	therapie-assoziierte AML
TLRs	Toll like receptors (Toll-Like-Rezeptoren)
TNF- α	Tumornekrosefaktor alpha
Ub	Ubiquitinierung
vs.	versus
VZV	Varizella-Zoster-Virus
WHO	World Health Organisation
ZVK	Zentraler Venenkatheter

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	- 1 -
2	Einleitung	- 4 -
2.1	Das angeborene Immunsystem.....	- 4 -
2.1.1	Proteine der NOD2-Familie.....	- 6 -
2.1.2	Bedeutung von NOD2-Polymorphismen	- 9 -
2.1.3	Klinische Relevanz anderer Polymorphismen.....	- 11 -
2.2	Akute myeloische Leukämie (AML)	- 12 -
2.2.1	Diagnostik der AML.....	- 13 -
2.2.2	Therapie der AML	- 14 -
2.2.3	Prognosefaktoren der AML	- 15 -
2.3	Infektiologische Komplikationen bei der akuten myeloischen Leukämie	- 17 -
2.3.1	Risikofaktoren für Infektionen.....	- 18 -
2.3.2	Bedeutung von opportunistischen Infektionen	- 21 -
2.3.3	Prophylaxe, Diagnostik und Therapie	- 22 -
3	Ziele der Arbeit.....	- 25 -
4	Publizierte Originalarbeit	- 26 -
5	Diskussion.....	- 27 -
6	Schlussfolgerung.....	- 36 -
7	Literatur- und Quellenverzeichnis.....	- 37 -
8	Anhang.....	- 58 -
8.1	Danksagung	- 58 -
8.2	Ehrenwörtliche Erklärung	- 59 -
8.3	Tabellarischer Lebenslauf	- 60 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: WHO-Klassifikation der AML

Tabelle 2: Prognostische Stratifikation der AML

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Proteine der NLR-Familie

Abbildung 2: NOD2-vermittelte Aktivierung des NF- κ B-Signalweges

1 Zusammenfassung

Die Proteine der NOD2-Familie stellen eine der wichtigsten Gruppe von intrazellulären Mustererkennungsrezeptoren des angeborenen Immunsystems dar und sind sowohl in hämatopoetischen Zellen (z.B. Monozyten und neutrophile Granulozyten) als auch in epithelialen Zellen wie den Paneth-Zellen des Dünndarms exprimiert. Bei Polymorphismen des NOD2-Gens wurde bereits eine erhöhte Anfälligkeit für das Auftreten einer bakteriellen Peritonitis bei Leberzirrhotikern beschrieben. Zur möglichen Assoziation zwischen Polymorphismen des angeborenen Immunsystems und dem Auftreten infektiöser Komplikationen bei chemotherapie-induzierter Neutropenie -z.B. bei der akuten Leukämie - gibt es nur wenige Daten. Bei Patienten mit Polymorphismen der MBL-Proteine konnte keine signifikant erhöhte Infektionsrate im Vergleich zu Patienten mit Wildtyp nachgewiesen werden. Ebenfalls konnte keine Korrelation mit septischen Ereignissen bei AML-Patienten mit Polymorphismen der Chitotriosidase (CHIT)- und MBL-Gene, welche eine intensive Induktionstherapie erhielten, nachgewiesen werden. Die wenigen bekannten Daten über NOD2-Polymorphismen bei Leukämiepatienten sind auf das Auftreten und die Schwere der "Graft versus host"-Erkrankung nach allogener Stammzelltransplantation beschränkt.

In dieser Arbeit wird der Zusammenhang zwischen Polymorphismen des NOD2-Gens und infektiologischen Komplikationen nach Induktionstherapie bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) untersucht. Wir stellten die Hypothese auf, dass SNP's (single nucleotide polymorphisms) von NOD2 mit einer höheren Rate an Infektionen in der Phase der schweren Neutropenie einhergehen. Es wurden 131 AML-Patienten, die eine Induktionstherapie erhalten haben, retrospektiv auf das Vorhandensein der drei häufigsten NOD2-Polymorphismen (Arg702Trp, Gly908Arg, Leu1007fsinsC) untersucht. Die SNP-Analysen erfolgten mittels PCR und FRET (Fluoreszenzresonanzenergietransfer) sowie Sequenzierung.

Bei 29 von den 131 untersuchten AML-Patienten (22,1%) wurden SNPs des NOD2-Gens nachgewiesen. Insgesamt zeigte sich eine hohe Übereinstimmung bezüglich der Häufigkeit der NOD2-"missense"-Mutationen (Arg702Trp und Gly908Arg) bei den von uns untersuchten AML-Patienten im Vergleich zu einer großen epidemiologischen Studie mit 370 Gesunden in Deutschland. Dagegen wurden vergleichsweise mehr Patienten

mit der Mutation Leu1007fsinsC in unserer AML-Kohorte nachgewiesen (12,2% vs. 7,2%).

In beiden AML-Subgruppen waren sowohl die durchschnittliche Dauer der Neutropenie (23 vs. 20 Tage) als auch die Anzahl der Fiebertage (5 vs. 4 Tage) praktisch identisch mit im Mittel nur einer Fieberepisode pro Patient. Fluorchinolone (Ciprofloxacin) wurden als antibiotische Prophylaxe in der Neutropenie in beiden AML-Gruppen mit gleicher Häufigkeit (69% vs. 72%) eingesetzt. Die am meisten verwendete antimykotische Prophylaxe in beiden Gruppen (89,2% vs. 96,6%) war Fluconazol. Bei schweren Infektionen in der Phase der verzögerten hämatopoetischen Rekonstitution nach der Induktionstherapie kamen G-CSF in vergleichbarer Häufigkeit bei beiden Gruppen zum Einsatz.

Es wurde bei unseren untersuchten NOD2-mutierten AML-Patienten ein gleichzeitiges Auftreten einer Mukositis bzw. Enteritis sowie von Fieber in der schweren neutropenischen Phase nicht beobachtet. Dagegen konnte bei 16,7% der AML-Patienten ohne Nachweis eines SNPs von NOD2 in der schweren Neutropenie eine Mukositis oder Enteritis in Verbindung mit Fieber dokumentiert werden. Dieser statistisch signifikante Unterschied verliert jedoch sein Power wenn die Anzahl der AML-Patienten in beiden Gruppen, welche prophylaktisch oder therapeutisch mit Metronidazol, beim Auftreten einer therapie-assoziierten/ infektiösen Mukositis bzw. Enteritis, behandelt wurden, miteinbezogen werden.

Die Häufigkeit infektiöser Komplikationen waren in der beiden AML-Subgruppen (NOD2-Wildtyp vs. mutiert) ähnlich: SIRS (49% vs. 59,2%), Sepsis (63,5% vs. 65,5%), ZVK Infektionen (29,4% vs. 24,1%), Pneumonie (29,4% vs. 27,6%), positive Keimnachweise mittels Blutkulturen (30,4% vs. 37,9%), Harnwegsinfektionen (2,9% vs. 3,5%). In Bezug auf positive Keimnachweise - sowohl zentrale als auch periphere Blutkulturen - wurden koagulase-negative Staphylokokken spp. in fast identischer Häufigkeit (26.5 vs. 24.1 %) in beiden Gruppen nachgewiesen. Dennoch konnten vermehrt Streptokokken spp. in den Blutkulturen von NOD2-mutierten AML-Patienten (17,2%) im Vergleich zu 3,9% bei AML-Patienten ohne NOD2-Mutation nachgewiesen werden ($p=0,014$).

Entgegen unserer Arbeitshypothese konnte kein signifikanter Unterschied zwischen wichtigen infektiologischen Komplikationen wie Venenkatheterinfektionen, Harnwegsinfekt, SIRS, Sepsis, schwerer Sepsis und insbesondere Pilzpneumonien bei

NOD2-mutierten AML-Patienten nachgewiesen werden. Dennoch zeigte sich eine signifikante Assoziation zwischen SNPs der NOD2-Gene und dem Nachweis von Streptokokken in den Blutkulturen bei AML-Patienten in der Neutropenie nach intensiver Induktionschemotherapie , was eine mögliche Relevanz von NOD2 für die Entwicklung von Streptokokken-Pneumonien bei AML-Patienten vermuten lässt.

2 Einleitung

Wirbeltiere sind oft Angriffen durch eine ganze Reihe von Mikroorganismen ausgesetzt und haben im Laufe ihrer Entwicklung einen effizienten Mechanismus entwickelt, um sich gegen Infektionen bzw. Krankheitserreger zu behaupten. Um eine adäquate antimikrobielle Antwort beim Menschen zu generieren, kann das Immunsystem in zwei unterschiedliche und sich gegenseitig ergänzende Formen unterteilt werden: Wirtschutz und immunologisches Gedächtnis. Die Makrophagen und die neutrophilen Granulozyten des angeborenen Immunsystems (Wirtschutz) bilden innerhalb von Minuten eine erste Verteidigungslinie gegen viele Mikroorganismen und sind für die Bekämpfung häufiger bakterieller Infektionen von grundlegender Bedeutung. Die Lymphozyten des adaptiven Immunsystems haben sich zu einem flexiblen Abwehrsystem entwickelt, das zusätzlich gegen eine erneute Infektion mit demselben Erreger einen erhöhten Schutz bietet. Die natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) besitzen keine antigenspezifischen Rezeptoren und gehören trotz ihres lymphatischen Ursprungs zum angeborenen Immunsystem, indem sie z.B. bestimmte Tumorzellen sowie mit Viren infizierte Zellen angreifen. Nur wenn die Erreger die angeborenen Abwehrmechanismen des Wirts umgehen oder überwinden, ist eine adaptive Immunantwort notwendig.

2.1 Das angeborene Immunsystem

Zunächst bilden die Oberflächenepithelien des menschlichen Körpers (Haut, effizienter mukoziliärer Apparat, niedriger pH-Wert des Magens und bakteriolytische Lysosomen in Tränenflüssigkeit, im Speichel und in anderen Sekreten) eine mechanische, chemische und mikrobiologische Barriere gegen Infektionen (Janeway et al. 2002).

Wenn ein Mikroorganismus eine Epithelbarriere überwindet und anfängt, sich im Körper des Wirts zu vermehren, wird er in den meisten Fällen von Gewebsmakrophagen sofort erkannt und eine Phagozytose ausgelöst. Die dadurch aktivierten Makrophagen können zudem T- Lymphozyten aktivieren. Außerdem kann beim Kontakt mit den Zellen des angeborenen Immunsystems das Komplementsystem aktiviert werden. Die dendritischen Zellen sind spezialisiert, den Lymphozyten Antigene zu präsentieren und die adaptive Immunantwort in Gang zu setzen.

Die angeborene Immunität bahnt die erste globale Immunantwort gegen Infektionen an, da sie für das frühe Aufspüren von angreifenden Mikroorganismen durch Erkennung molekularer Muster unterschiedlicher Pathogene (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) mittels spezifischer Mustererkennungsrezeptoren (pattern recognition molecules, PRMs) verantwortlich ist. Im Kontrast zu dem erworbenen (adaptiven) Immunsystem, welches eine komplizierte Genumlagerung für die klonale Selektion von Lymphozyten erfordert, können die PRMs eine ganze Reihe von PAMPs von verschiedenen Mikroorganismen, z.B. Bakterien, Viren, Pilzen und Parasiten erkennen. Dadurch wird eine rasche, aber unspezifische Immunantwort auf derartige Angriffe erzeugt. Einige Strukturen, die von PAMPs erkannt werden, sind z.B. bakterielle Zellwandbestandteile (Muramyl(di)peptide, Peptidoglykane, Lipopolysaccharide, Flagelline) und Nukleinsäuren (Akira et al. 2006). Außerdem können die PRMs vom Wirt ausgehende Signale der antibiotischen Zellbelastung, Insulte der Umgebung, Zellschaden und Zelltod über sogenannte "damage-associated molecular patterns" (DAMPs) erkennen. Einige gute beschriebene DAMPs sind z.B. Hitzeschock-Proteine (HSPs), S100-Proteine und Nukleinsäuren (DNA, RNA) sowie mitochondriale DNA. Das angeborene Immunsystem ist jedoch auch mitverantwortlich für die Aktivierung und Regulation des spezifischen (erworbenen) Immunsystems.

Die hämatopoetischen Zellen, einschließlich Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und dendritischen Zellen sowie die nicht-hämatopoetischen Zellen wie z.B. epitheliale Zellen, sind primär für die angeborene Immunität verantwortlich, da sie die o.g. spezifischen Rezeptoren (PRMs) besitzen. Je nach subzellulärer Lokalisation, molekularen Strukturen und Erkennungsmustern können die PRMs in Gruppen unterteilt werden. Die Toll-like-Rezeptoren (TLRs) und die Lektin-Rezeptoren vom C-Typ (CLRs) sind membrangebundene Rezeptoren, welche in der extrazellulären Umgebung (Plasma) sowie in Endosomen auf (phagozytierte) PAMPs und DAMPs erkennen können (Kumar et al. 2009, Huysamen et al. 2009).

Die intrazellulären Nukleinsäure-erkennenden PRMs sind für zytosolische Überwachung zuständig. Dazu gehören sowohl virale RNA-Sensoren als auch die DNA-Sensoren. Zu den intrazellulären Sensoren gehören ebenso die NOD-like-Rezeptoren (NLR-nucleotide binding oligomerization domain-like Rezeptoren), die sowohl PAMPs als auch DAMPs erkennen können (Schröder et al. 2010, Wikins et al. 2010, Schröder et al.

2009).

Nach Bindung der Liganden an die entsprechenden Rezeptoren werden eine Reihe von spezifischen Signalkaskaden getriggert, welche die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und Chemokinen sowie Interferon Typ 1 ermöglichen, indem Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B, AP-1, Elk-1, ATF2, p53 und Teile der Interferon Regulatory factor (IRF)-Familie aktiviert werden (Vallabhapurapu et al. 2009, Battistini et al. 2009, Kim et al. 2010).

2.1.1 Proteine der NOD2-Familie

Insgesamt sind 23 NLRs beim Menschen und 32 NLRs bei Mäusen bekannt. Diese Sensoren bestehen aus drei Domänen. Die strukturellen Charakteristika der menschlichen NLR-Familie sind in Abbildung 1 dargestellt. Die C-terminale Domäne enthält mehrere LRR-Motive (Leucine rich repeats), welche für die Erkennung von PAMPs und DAMPs von Bedeutung sind. Die N-terminale Domäne besteht aus einer zentralen Domäne (NACHT) und einer terminalen Domäne. Diese wiederum ist für die Rekrutierung von wichtigen Molekülen der Signaltransduktion nach Bindung von mikrosomalen Liganden verantwortlich. Die zentrale NACHT-Domäne vermittelt die Oligomerisierung der NLRs.

Es konnte gezeigt werden, dass viele Proteine der NLR-Gruppe die Fähigkeit, die notwendigen Signale für die Aktivierung von T- und B-Zellen zu induzieren, besitzen. Insbesondere wurden NOD1 und NOD2 für diese Wechselwirkung zwischen angeborener und adaptiver Immunität mitverantwortlich gemacht. Ferner wurde gezeigt, dass NOD2 die selektive Immunantwort auf die Muramylpeptide (MDPs) unterstützt (Kobayashi et al. 2005). Zudem zeigte sich die lymphozytäre Immunantwort in NOD1-"knock out"- Mäusen stark vermindert (Fritz et al. 2007). Die ersten NLRs, die als Sensoren für PAMPs beschrieben wurden, waren NOD1 und NOD2. Diese Proteine sind primär intrazellulär lokalisiert und können zwei verschiedene Bestandteile von Peptidoglykanen (PG) bakterieller Zellwänden erkennen: DAP (γ -D-glutamyl-mesodiaminopimelic acid) von gramnegativen Bakterien und MDP (MurNAc-L-Ala-DisoGln) von gramnegativen sowie grampositiven Bakterien (Girardin et al. 2003, Inohara et al. 2003, Chamaillard et al. 2003).

NOD1 ist ein spezifischer "sensor" für gramnegative Bakterien und einige grampositive

Bakterien wie *Listeria monocytogenes* und *Bacillus subtilis*. Für die Elimination von *Helicobacter pylori* und Streptokokken konnte NOD2 eine sichere Rolle zugeschrieben werden (Viala et al. 2004, Clarke et al. 2010). Zuletzt wurde die wichtige Rolle von NOD1 für den Wirtschutz bei Infektion durch *Trypanosoma cruzi* gezeigt, so dass NOD1 am ehesten auch an der Beseitigung von Mikroorganismen ohne PG beteiligt ist (Silva et al. 2010). NOD2 erkennt MDPs von sowohl gramnegativen als auch grampositiven Bakterien und ist daher der Hauptsensor für intrazelluläre Bakterien. Eine konkrete Beteiligung von NOD2 an der Elimination von Bakterien wurde für *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* und *Mycobacterium tuberculosis* beschrieben (Opitz et al. 2004, Divaganihi et al. 2008).

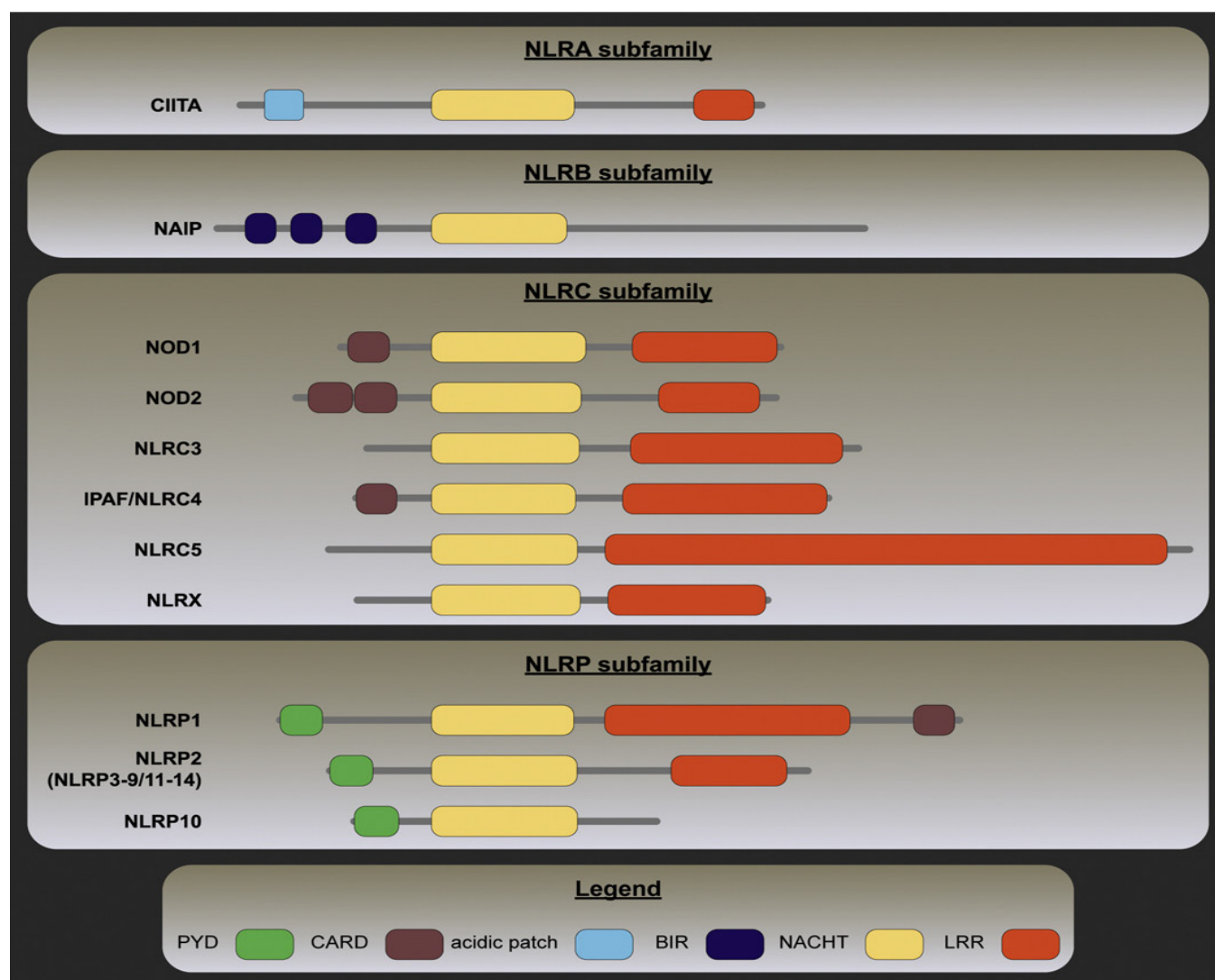


Abbildung 1. Proteine der NLR-Familie (nach Kristof et al. 2011)

NOD2 besteht aus zwei N-terminalen CARDs (Caspase Recruitment Domains), einer zentralen Nukleotid-bindenden Oligomerisierungs (NACHT)-Domäne und zehn C-terminalen LRRs. NOD2 wird in hämatopoetischen Zellen z.B. Makrophagen, Monozyten, neutrophilen Granulozyten und dendritischen Zellen sowie in einigen nicht-hämatopoetischen Zellen wie z.B. den Paneth-Zellen des Dünndarms exprimiert. Die NOD2-Expression kann ebenfalls in kultivierter intestinalen epithelialen Zellen durch die proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IFN- γ induziert werden (Ogura et al. 2001b, Ogura et al. 2003).

NOD2 leitet eine Reihe von NF- κ B abhängigen proinflammatorischen Reaktionen nach Aktivierung ein (Giradini et al. 2001, Giradini et al. 2003a/b). Dadurch werden mittels der NACHT-Domäne die Oligomerisierung initiiert und die Serin-Threonin-Kinase RIP2 über eine homotypische CARD-CARD Interaktion rekrutiert (Inohara et al. 2000). Es wurde berichtet, dass RIP2 ebenfalls eine Tyrosinkinaseaktivität besitzt und dass die Autophosphorylierung von RIP2 für die maximale Induktion von NF- κ B notwendig ist (Tigno-Aranjuez et al. 2010). Außerdem konnte gezeigt werden, dass RIP2 auch für die Aktivierung des JNK (c-Jun NH(2)-terminal protein Kinase) Signalweges und die Induktion von Zelltod durch Apoptose mitverantwortlich ist (da Silva Correia et al. 2006). Die aktivierte Kinase RIP2 vermittelt die Ubiquitinierung von NEMO, welche an der Phosphorylierung, der konsekutive Ubiquitinierung und schließlich dem proteasomalen Abbau von I κ B- α beteiligt ist. Unter Normalbedingungen sind NF- κ B-Proteine als Heterodimere (p50 und p65) zusammen mit I κ B- α im Zytoplasma lokalisiert. Nach dem proteasomalen Abbau von I κ B- α kann NF- κ B in den Zellkern translozieren, um die Transkription seiner Zielgene zu initiieren (Burns et al. 2004).

Die NOD2-Stimulation induziert neben der dargestellten Aktivierung des NF- κ B-Signalweges nach Rekrutierung eines dritten Proteins (CARD9) auch die Aktivierung von p38 MAPKs, (mitogen activated protein-kinases), welche über den Transkriptionsfaktor AF-1(Activating factor 1) die Expression vieler proinflammatorischer Zytokine (z.B. TNF- α , IL-12p70, IL-6, IL-10) und Chemokinen (z.B. IL-8, MCP-1, KC) sowie von antimikrobiellen Peptiden induzieren (Bertrand et al. 2009, Watanabe et al. 2004). Diesbezüglich konnte gezeigt werden, dass NOD2 "knock-out"-Mäuse häufiger an *Listeria monocytogenes* erkranken (Kobayashi et al. 2002, Kufer et al. 2006). Neben der durch die bakteriellen MDP übermittelten NOD2-Stimulation wird bei einer viralen

Infektion mit ssRNA-Viren (z.B. RSV, VZV oder Influenza A) ebenfalls über NOD2 die Produktion von IFN Typ1 stimuliert. Über mitochondriale Proteine des MAVS-Komplexes (mitochondrial antiviral signalling protein) werden die IKK-verwandten Kinasen aktiviert, welche ebenfalls die Produktion von IFN Typ 1 einleiten. NOD2 "knock-out"-Mäuse sind für Infektionen mit RS-Viren besonders anfällig (Sabbah et al. 2002).

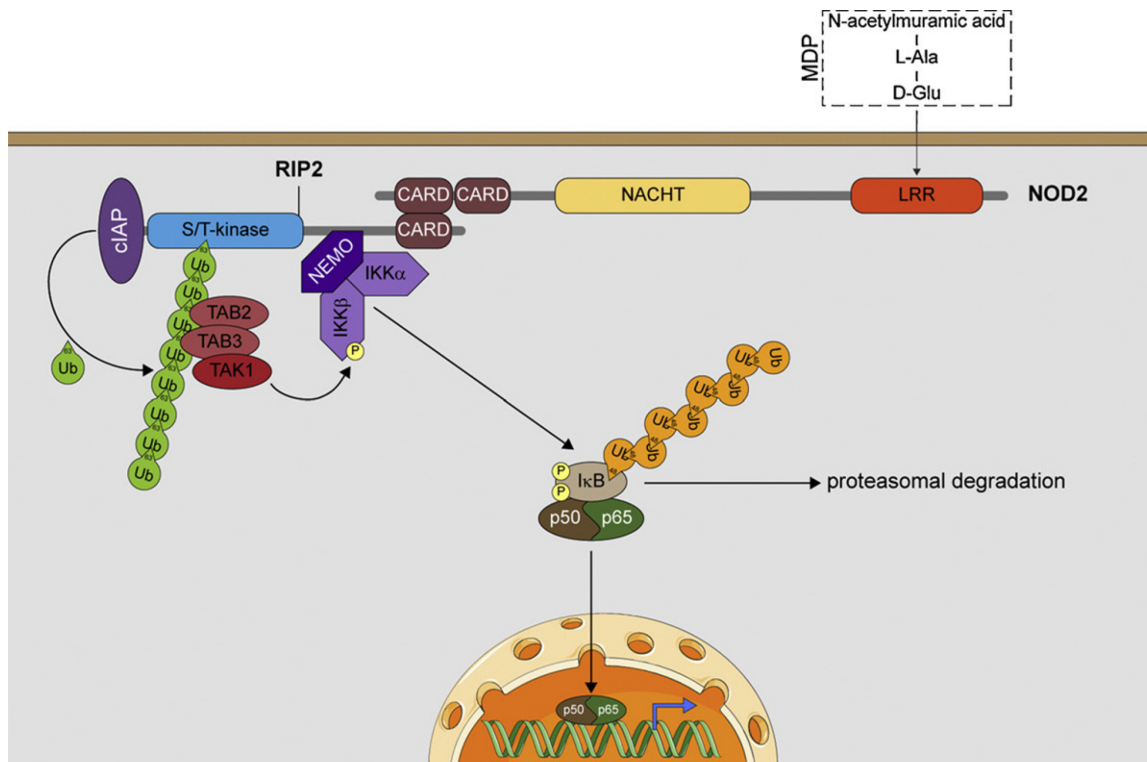


Abbildung 2. NOD2-vermittelte Aktivierung des NF-κB-Signalweges (nach Kristof et al. 2011).

2.1.2 Bedeutung von NOD2-Polymorphismen

Der erste sichere Hinweis eines genetischen Defekts in Verbindung mit bakteriellem "Sensing" war die Entdeckung, dass Mutationen im NOD2-Gen ein höheres Risiko für die Entwicklung eines Morbus Crohn zur Folge haben. Die drei häufigsten Mutationen - die "missense Mutationen" Arg702Trp und Gly908Arg sowie die "frame-shift"-Mutation Leu1007fs -repräsentieren über 80% der NOD2-Polymorphismen bei Morbus Crohn-Patienten (Rescigno et al. 2010). Homozygotie hat ein bis zu 40%-iges Risiko an Morbus Crohn zu erkranken zur Folge. Dennoch bleiben viele homozygote Patienten

gesund oder diejenigen, welche die Erkrankung entwickeln, haben in den ersten 10-15 Lebensjahren einen asymptomatischen Verlauf, so dass wahrscheinlich andere zusätzliche Faktoren (genetische und ökologische) hinsichtlich der Entstehung der Erkrankung mit der NOD2-Mutation zusammenwirken (Hugot et al. 2001).

Es wurden mehrere Modelle für das Zusammenspiel zwischen NOD2-Mutationen und induzierter Inflammation beim Morbus Crohn postuliert. In einem Modell ist NOD2 für die Homöostase der intestinalen Immunbarriere mitverantwortlich, dahingehend dass Kaskaden für die Regulation der bakteriellen Population getriggert werden. Tatsächlich sind NOD2-Mutationen bei klinisch manifestem Morbus Crohn mit einer verminderten Effektivität der Pathogen-Eradikation durch funktionelle Beeinträchtigungen, z.B. des NF- κ B Signalweges, der Produktion von alpha-Defensin durch Panethzellen und der direkten bakteriellen Zerstörung in der NOD2-LRR-Domäne sowie der bakteriellen Eradikation mittels Autophagozytose assoziiert (Charmaillard et al. 2003, Wehkamp et al. 2005, Perez et al. 2004, Cooney et al. 2010, Travassos et al. 2010). Die Deregulierung der o.g. Vorgänge führt zur vermehrten bakteriellen Überladung mit inadäquater intestinaler Immunantwort, so dass die sekundäre Inflammation induziert wird. In einem anderen Modell wurde postuliert, dass die NOD2-Variante Leu1007fs bei klinisch manifestem Morbus Crohn die Produktion anti-inflammatorischer Zytokine wie IL-10 aktiv supprimiert (Noguchi et al. 2009). Zusammenfassend sind am ehesten mehrere Mechanismen für die klinische Entwicklung dieser Erkrankung verantwortlich, welche ein komplexes Zusammenspiel zwischen genetischen und ökologischen Faktoren beinhaltet.

In früheren Studien wurden auf die Rolle von NOD2 in der Entstehung einer Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (GvHD) nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation hingewiesen. Eine signifikante Assoziation zwischen SNPs von NOD2 und der Schwere sowie Häufigkeit einer Darm-GvHD konnte nachgewiesen werden (Langfried et al. 2010, Elmaagacli et al. 2006). Jedoch zeigte sich im Gegensatz zu diesen Ergebnissen in mehreren klinischen Studien kein wesentlicher Zusammenhang zwischen einer NOD2-Mutation und dem Auftreten einer GvHD (Granell et al. 2006, Gruhn et al. 2009, Mayor et al. 2008). Diese Diskrepanz ist noch nicht richtig verstanden.

2.1.3 Klinische Relevanz anderer Polymorphismen

Es soll hier insbesondere auf die klinische Bedeutung von Toll-like-Rezeptoren (TLRs) und deren Polymorphismen eingegangen werden. So wurde einerseits eine Assoziation zwischen TLR4-Polymorphismen und dem Risiko für eine GvHD bei Patienten, die eine Stammzelltransplantation von einem HLA-identen Geschwister-Spender erhalten haben, beobachtet. Es wurde ebenfalls ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer gramnegativen Bakteriämie bei Vorhandensein einer TLR4-Mutation bei diesen Patienten berichtet (Lorenz et al. 2001). Dennoch war diese Assoziation bei den Patienten, die eine Prophylaxe gegen Infektionen und GvHD erhalten haben, nicht statistisch signifikant, so dass TLR4-Polymorphismen keinen unabhängigen Risikofaktor für eine schwere GvHD darstellen. Dennoch wurde eine erhöhte Rate schwerer GvHD (vor allem Darm-GvHD) bei gleichzeitigem Vorhandensein von spezifischen SNPs innerhalb der kodierenden Region des TLR4-Gens beim Spender und Donor beobachtet. Da die Darmflora die Schwere einer Darm-GvHD beeinflussen könnte, wurde die klinische Relevanz einer antibiotischen Prophylaxe hinsichtlich des Auftretens einer Darm-GvHD untersucht. Es stellte sich heraus, dass eine prophylaktische orale Darmdekontamination mit Ciprofloxacin und Metronidazol das Auftreten einer schweren akuten Darm-GvHD senkt (Elmaagacli et al. 2006). In diesem Zusammenhang kann ergänzend angeführt werden, dass eine Assoziation zwischen den TLR4-SNPs und einem erhöhten Risiko an einer Colitis ulcerosa zu erkranken beschrieben wurde (Torok et al. 2004). Eine NLRP3-Gen-Mutation ist mit einem erhöhten Risiko an einem Morbus Crohn zu erkranken verbunden (Tamura et al. 2002, Villani et al. 2009). Mutationen im *cas1*-Gen (Exon 3) des NLRP3-Inflammasoms verursachen ebenfalls eine Gruppe von seltenen autoinflammatorischen Erkrankungen, gemeinsam bezeichnet als "Cryopyrin/NLRP3-associated periodic syndroms" (CAPS) (Kubota et al. 2010, Yu et al. 2010). Eine Prädisposition für eine weitere immunologische Erkrankung ("bare lymphocyte syndrome") wurde den sog. CIITA Mutationen zugeschrieben (Reith et al. 2001).

2.2 Akute myeloische Leukämie (AML)

Akute Leukämien sind klonale Erkrankungen der hämatopoetischen Zellen, welche durch genetische Veränderungen entstehen und zu einer Beeinträchtigung der Differenzierung und Proliferation der hämatopoetischen Zellen führen. Diese unreifen und veränderten Vorläuferzellen akkumulieren in Blut und Knochenmark und werden je nach hämatopoetischem Ursprung als leukämische Myeloblasten oder Lymphoblasten bezeichnet. Außerdem können andere Organe von leukämischen Blasten infiltriert werden. Die Folge dieser klonalen Zellexpansion im Knochenmark ist eine zunehmende Verdrängung der normalen Hämatopoese mit konsekutiver hämatopoetischer Insuffizienz. Sie treten akut auf, sind meist rasch progredient und führen unbehandelt innerhalb kurzer Zeit zum Tod. Eine akute Leukämie liegt definitionsgemäß bei Nachweis von mindestens 20% Blasten im Blut oder im Knochenmark vor.

Auch wenn im Knochenmark weniger als 20% myeloische Blasten vorliegen, ist bei dem Vorhandensein der pathognomonischen zytogenetischen Veränderungen t(8;21), t(16;16), t(15;17) oder inv(16) die Diagnose einer AML zu stellen. Die Inzidenz der akuten myeloischen Leukämie (AML) steigt mit zunehmendem Alter kontinuierlich an und beträgt 1/100.000 pro Jahr bei den 35-bis 40-Jährigen und 17/100.000 pro Jahr bei den 80- bis 85-Jährigen (Cheson et al. 2003). Mit einer durchschnittlichen jährlichen Inzidenz von 2-3/100.000 ist die AML die häufigste akute Leukämie des Erwachsenenalters und macht ca. 75-80% aller akuten Leukämien in dieser Altersgruppe aus (Juliussen et al. 2009). Bei der großen Mehrzahl der Patienten mit AML sind die auslösenden Faktoren der Erkrankung nicht bekannt. Nach der Ätiologie lassen sich drei Formen der AML unterscheiden. Die primäre AML ohne eine erkennbare Ursache der Erkrankung wird als *de novo*-AML bezeichnet. Geht der AML ein myelodysplastisches Syndrom (MDS) oder eine Chemo- oder Radiotherapie voraus, wird diese als sekundäre AML (sAML) bzw. therapieassoziierte AML (t-AML) bezeichnet. Die Exposition gegenüber Benzol zählt zu den gesicherten Ursachen für ein gehäuftes Auftreten der AML. Die vorherige Behandlung mit Chemotherapeutika wie Alkylanzien oder Topoisomerase-II-Inhibitoren ist die häufigste exogene Ursache für die Entwicklung einer AML. Patienten mit einer kongenitalen Erkrankung der Hämatopoese wie bei Fanconi-Anämie, paroxysmaler nächtlicher Hämoglobinurie, schwerer aplastischer Anämie, kongenitaler Neutropenie (Kostmann-Syndrom) oder familiärer Thrombopenie

haben ein erhöhtes Risiko für das Auftreten eines MDS und einer AML. Diese Patienten weisen häufig zusätzliche zytogenetische Aberrationen auf. Darüber hinaus besteht bei Kindern mit Down-Syndrom und Klinefelter-Syndrom ein erhöhtes AML-Risiko. Sowohl die sAML als auch die t-AML gelten als unabhängige Risikofaktoren für einen schlechteren Behandlungserfolg der akuten Leukämie.

Tabelle 1 : WHO Klassifikation der AML (nach Swerdlow 2008)

1.	AML mit rekurrenten genetischen Abnormalitäten
	- AML mit t(8;21)(q22;q22) (AML1/ETO)
	- AML mit inv (16)(p13.1;q22) oder t(16;16)(p13.1;q22) CBFB/MYH11
	- Akute Promyelozytenleukämie mit t(15;17)(q22;q12); PML/RARA
	- AML mit t(9;11); MLLT3-MLL
	- AML mit t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP2142
	- AML mit inv(3)(q21q26.2) oder t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1
	- AML mit t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1
	- AML mit mutiertem NPM1/ AML mit mutiertem CEBPA
2.	AML mit Myelodysplasie-assoziierten Eigenschaften (Multilinien-Dysplasien)
3.	Therapie-assoziierte AML
4.	AML ohne weitere Spezifizierung
	- FAB M0, M1,M2,M4,M5,M6,M7
	- Akute basophile Leukämie und Akute Panmyelose mit Myelofibrose

2.2.1 Diagnostik der AML

Zur Diagnosesicherung einer AML gehören außer dem zytologischen Nachweis von Blasten in den Ausstrichen des Knochenmarks und /oder des peripheren Blutes ebenfalls die zytochemische und zytogenetische sowie die molekulargenetische Untersuchung des Knochenmarkes. Bei einer Punctio sicca muss die Diagnose letztendlich durch eine entsprechende histologische Untersuchung des Knochenmarkszylinders gestellt werden. Über zusätzliche immunzytologische bzw. immunhistologische Untersuchung kann die myeloische von der lymphatischen Leukämie abgegrenzt werden. Auf dem Boden einer zytomorphologischen Beurteilung von Blut- und Knochenmarkausstrichen in der Pappenheim-Färbung in Kombination mit

zytochemischer Analyse wurde die AML in der FAB-Klassifikation in sieben morphologische Hauptgruppen klassifiziert. Dabei musste bis auf wenige Ausnahmen der Anteil der Blasten an allen kernhaltigen Zellen mindestens 30% betragen. Einige Subgruppen der FAB-Klassifikation entsprechen genetisch definierten Formen der AML, für den überwiegenden Teil trifft dies jedoch nicht zu. In der WHO-Klassifikation der AML von 2008, welche vier Hauptgruppen umfasst, wurden zusätzlich zur FAB-Klassifikation die molekulargenetische Beurteilung des Knochenmarkes sowie klinische Faktoren in die Gruppeneinteilung mit einbezogen (Tabelle 1). Im Gegensatz zur FAB-Klassifikation muss der Anteil myeloischer Blasten im peripheren Blut oder Knochenmark mindestens 20% betragen.

2.2.2 Therapie der AML

Sowohl die Zerstörung der Leukämiezellen als auch die Wiederherstellung der normalen Hämatopoese sind die primären Ziele der Therapie der AML. Die intensive Chemotherapie bleibt diesbezüglich der Goldstandard in der Behandlung der AML und kann in zwei Behandlungsphasen, die Induktionstherapie und die Postremissionstherapie gegliedert werden. Die Induktionstherapie dient dem Erreichen einer kompletten Remission und die Postremissionstherapie der endgültigen Eliminierung residualer Leukämiezellen. In der mit kurativem Anspruch durchgeführten intensiven Induktionstherapie kommen zwei zytostatische Substanzklassen zum Einsatz: Cytosinarabinosid und Antrazykline. Eine Induktionstherapie mit kurativem Ansatz ist zwar bei jedem AML-Patienten wünschenswert, ist aber aufgrund verschiedener Faktoren (vor allem Alter, Allgemeinzustand und Komorbiditäten) nicht realisierbar. In diesen Fällen besteht das Ziel darin, wenig belastende Therapiekonzepte auszuwählen, damit der Patient möglichst lange bei guter Lebensqualität mit der Erkrankung leben kann. Zu diesem Zweck kann eine Therapie mit Decitabine oder niedrig-dosiertem Cytosinarabinosid zum Einsatz kommen. Unabhängig davon stellen supportive Therapien wie die Transfusion von Blutprodukten und der Einsatz antibiotischer Therapien bei infektiösen Komplikationen wichtige Teile der AML-Therapie dar. Für die Postremissionstherapie stehen sowohl die allogene Blutstammzelltransplantation als auch die konventionelle Konsolidierungstherapie als Therapieoptionen zur Verfügung. Für alle Patienten mit ungünstiger Risikokonstellation

(ungünstige zytogenetische Aberration, sAML/t-AML, Nicht-Erreichen einer kompletten Remission nach der Induktionstherapie, insuffiziente hämatopoetische Rekonstitution) ist bei Vorhandensein eines geeigneten Familien- oder Fremdspenders die allogene Blutstammzelltransplantation die Therapie der Wahl. Mit der dosisreduzierten Konditionierung können auch AML-Patienten bis zum 75. Lebensjahr mit einer Stammzelltransplantation behandelt werden. Patienten in der intermediären Risikogruppe sollten einer allogenen Transplantation unterzogen werden, wenn zusätzliche molekulargenetische Aberrationen mit schlechter Prognose wie z.B. die FLT3-ITD (interne Tandem-Duplikation) oder MLL-Mutationen vorhanden sind (Schlenk et al. 2008). Für Patienten mit günstiger oder intermediärer Risikokonstellation ohne zusätzlichen ungünstigen molekulargenetischen Marker bleibt weiterhin die konventionelle zytostatische Konsolidierungstherapie die Therapie der Wahl. Eine dauerhafte Krankheitsfreiheit und somit Heilung der Erkrankung ist momentan lediglich bei 30% bis 40% aller Patienten möglich (Kern et al. 2003).

Von der beschriebenen intensiven Chemotherapie weicht die bereits zuvor geschilderte Behandlung der AML M3 mit dem Nachweis der APL-spezifischen Chromosomentranslokation t(15;17)(q22;q21) bzw. des Fusionsgens PML-RAR α ab. Zur Remissionsinduktion der APL werden *all-trans*-Retinol-säure (ATRA), ein Anthrazyklin sowie risikostratifiziert Cytosinarabinosid kombiniert. Nach Konsolidierung wird eine Erhaltungstherapie mit Methotrexat, Purinethol und ATRA über zwei Jahre eingeleitet.

2.2.3 Prognosefaktoren der AML

Im Allgemeinen gilt die AML als chemotherapiesensible Erkrankung. Nach einer Induktionstherapie erreichen ca. 70% der unter 60-Jährigen und ca. 60% der über 60-Jährigen eine komplette Remission. Eine komplette Remission ist definiert als eine Blastenreduktion auf < 5% im Knochenmark nach erfolgter Therapie und vollständiger Blutbildregeneration (Cheson et al. 2003). Dennoch liegt die 5-Jahre Überlebensrate bei nur 40-50% für jüngere und lediglich ca. 20% für ältere Patienten. Die Gründe für die hohe Mortalität sind vielfältig, an erster Stelle stehen die Rezidivraten sowie die Mortalität durch infektiöse und toxische Komplikationen.

In mehreren Therapiestudien konnte in multivariaten Analysen gezeigt werden, dass der

Karyotyp der leukämischen Blasten den wichtigsten unabhängigen Prognosefaktor darstellt. Insgesamt weisen ca. 20% der AML Patienten eine balancierte Translokation auf. Die balancierten Translokationen t(15;17), t(8;21) und inv(16)/t(16;16) sind mit einer günstigen Prognose vergesellschaftet. Seit der Einführung der Therapie mit dem Vitamin-A-Säure-Derivat, (ATRA) können Überlebensrate über 80% bei der akuten Promyelozytenleukämie (APL) mit der Translokation t(15;17) erreicht werden. Die Kombination von ATRA und anthrazyklin-basierten Chemotherapien führt zu Remissionsraten über 90% und einer dauerhaften Krankheitsfreiheit und Heilung in mehr als 80% der Patienten. Dagegen sind nichtbalancierte genetische Veränderungen an den Chromosomen 3, 5, 7 sowie an Bande 11q23 oder ein komplex-aberranter Karyotyp (mindestens drei strukturelle und/oder numerische Aberrationen) prognostisch ungünstig. Dennoch weist ein Großteil (ca. 45%) der Patienten mit AML keine zytogenetischen Aberrationen auf. Ein normaler Karyotyp sowie alle weiteren zytogenetischen Aberrationen werden als prognostisch intermediär gewertet. Mit dem Nachweis zusätzlicher molekularer Veränderungen kann die Prognose beim unauffälligen Karyotyp genauer abgeschätzt werden. Eine FLT3-ITD-Mutation ist mit einem signifikant kürzeren Überleben assoziiert. Dagegen sind Mutationen des Nukleophosmin-(NPM1)-Gens bei normalem Karyotyp sowie Mutationen im CCAAT/enhancer-binding protein alpha (CEBPA)-Gen mit einer günstigen Prognose vergesellschaftet (Schlenk et al. 2008 sowie Tabelle 2).

Wie bereits angeführt stellt ein Alter von über 60 Jahren bei der Diagnosesicherung einen wesentlichen prognostischen Risikofaktor dar. Neben einer am ehestens altersbedingt erhöhten Morbidität und chemotherapieinduzierten Organtoxizität spielt die Krankheitsbiologie im Alter eine erhebliche Rolle für die schlechte Prognose. Sowohl die sekundäre AML aus einem MDS als auch die t-AML kommen gehäuft im Alter vor und sprechen schlechter auf die Chemotherapie an. Die erhöhte Expression des "multidrug resistance proteins 1" (MDR-1) erscheint für die schlechtere Chemosensitivität im Alter mitverantwortlich. Außerdem treten oben genannte nichtbalancierte Translokationen sowie der komplex-aberrante Karyotyp häufiger als die prognostisch günstigen balancierten Translokationen im Alter auf. Andere klinische Faktoren wie ECOG-Performance-Status und therapieassoziierte Faktoren wie Blastenpersistenz am Tag 15 der Induktionstherapie und refraktäre Erkrankung spielen für die Prognosestratifizierung

ebenfalls eine erhebliche Rolle.

Tabelle 2 : Prognostische Stratifikation der AML (nach Döhner et al. 2010)

Prognose	Molekulargenetische Gruppe
Günstig	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11 NPM1- Mutation ohne FLT3-ITD (normaler Karyotyp) CEBPA-Mutation (normaler Karyotyp)
Intermediate 1	NPM1-Mutation und FLT3-ITD (normaler Karyotyp) NPM1-Wildtyp und FLT3-ITD (normaler Karyotyp) NPM1-Wildtyp ohne FLT3-ITD (normaler Karyotyp)
Intermediate II	t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL Zusätzliche zytogenetische Aberrationen : nicht günstig /schlecht
Ungünstig	inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1 t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214 t(v;11)(v;q23); MLL rearranged -5 oder del(5q); -7; abn(17p); komplex abherranter Karyotyp

2.3 Infektiologische Komplikationen bei der akuten myeloischen Leukämie

Eine der häufigsten Probleme in der Behandlung von AML-Patienten ist die hohe therapie- assoziierte Mortalität. Infektionen bleiben unangefochten die Hauptursache für die Mortalität und Morbidität der AML-Patienten und stellen bis zu 70% der Todesursachen dar (Böhme et al. 2000, Segal et al. 2007). Das Auftreten von Fieber bei neutropenischen Patienten ist oft der einzige klinische Indikator für eine Infektion. Fast alle AML-Patienten haben während der Induktions und Konsolidierungstherapie eine Grad 4 Neutropenie (nach WHO). Die Inzidenz von neutropenischem Fieber wird je nach Phase der Erkrankung und Intensität der Chemotherapie zwischen 50% und 90% angegeben (Ottmann et al. 2007).

Im Allgemeinen gilt, dass bei ca. 50% der AML-Patienten mit neutropenischem Fieber eine initial dokumentierte Infektion nachgewiesen werden kann, während bei den übrigen Patienten ein Infektionsfokus nicht lokalisierbar ist. In der zuletzt veröffentlichten retrospektiven epidemiologischen Studie zur Ätiologie von infektiösen Komplikationen bei AML-Patienten (insgesamt 747 AML-Patienten) konnte trotz aller aktuell bestehenden diagnostischen Möglichkeiten zum Nachweis von bakteriellen, viralen und

Pilzinfektionen in ca. 38% der Fälle kein Infektfokus nachgewiesen werden (Pagano et al. 2011).

Als Fieber unklarer Genese ("fever of unknown Origin", FUO) wird neu aufgetretenes Fieber ohne richtungsweisende klinische oder mikrobiologische Infektionsbefunde gewertet. Hierzu wird eine einmalige Temperatur $\geq 38,3^{\circ}\text{C}$ oder eine Temperatur von $38,0^{\circ}\text{C}$ für mindestens eine Stunde anhaltend oder zweimal innerhalb von 12 Stunden ohne erkennbare Ursache gefordert.

Im Vergleich zur akuten lymphatischen Leukämie (ALL) und zum MDS stellt die AML die höchste Risikogruppe für die Entwicklung infektiöser Komplikationen dar (Pagano et al. 2012). Bakterielle sowie Pilzinfektionen sind die Hauptursache der Morbidität und Mortalität bei AML-Patienten. Insgesamt versterben ca. 10% der AML-Patienten während der Induktionstherapie an infektiösen Komplikationen (Bennet 2001). Auch wenn kein Infektionsfokus nachzuweisen ist, muss bei AML-Patienten mit Fieber in der Neutropenie zur Vermeidung lebensbedrohlicher infektiöser Komplikationen eine sofortige antibiotische Therapie eingeleitet werden. Die empirische Therapie richtet sich nach den Erregern, die bei typischen Infektionen gefunden werden sowie nach der aktuellen Erreger- und Resistenzlage (Hughes et al. 2002).

2.3.1 Risikofaktoren für Infektionen

Die Neutropenie stellt weiterhin den wesentlichen Risikofaktor für Infektionen bei AML-Patienten da. Neutrophile Granulozyten sind für die Initiierung und Ausführung der akuten inflammatorischen Antwort und die Elimination von Infektionen verantwortlich. Bei Neutropenie treten vermehrt bakterielle Infektionen (grampositive und gramnegative Erreger) sowie Pilzinfektionen auf. Die Schwere der Infektionen ist abhängig von Grad und Dauer der Neutropenie. Nach einer intensiven Induktionstherapie kann je nach Chemotherapieregime die Neutropeniephase zwischen 18 und 24 Tage dauern (Schaich et al. 2011). Bei einer persistierenden Neutropenie von 3 Wochen wurde von einem Infektionsrisiko von 60% berichtet, was bei ausgeprägter Neutropenie (neutrophile Granulozyten $\leq 0,1 \text{ Gpt/l}$) bis auf 100% ansteigt. Die Inzidenz von Infektionen korreliert dabei nicht nur mit der Neutrophilenzahl, sondern auch mit der Dauer der Neutropenie (Bodey et al. 1966). Im Allgemeinen werden Hochrisikopatienten als die Patienten mit einer zu erwartenden Neutropeniedauer von mehr als zehn Tagen und einer schweren

Neutropenie eingestuft.

Zudem ist ein fortgeschrittenes Alter ein unabhängiger Risikofaktor für infektiöse Komplikationen bei der AML. Die schlechten Langzeitergebnisse nach intensiver Induktionstherapie der AML-Patienten > 60 Jahre im Vergleich zu jüngeren Patienten ist zum Teil auf die infektiösen Komplikationen bei älteren Patienten zurückzuführen. Dabei spielen nicht nur die Komorbiditäten im Alter eine erhebliche Rolle, sondern auch die eingeschränkte Verträglichkeit der zytotoxischen Therapie mit der begleitenden therapie-assoziierten Toxizität.

Des Weiteren spielt in der Abschätzung des Infektionsrisikos bei AML-Patienten, vor allem bei sekundärer AML aus MDS, nicht nur die absolute Neutrophilenzahl, sondern auch die funktionelle Neutropenie eine wichtige Rolle. Die Neutrophilendysfunktion beim MDS ist auf einen multifaktoriellen Differenzierungsdefekt im Kompartiment der pluripotenten Stammzellen zurückzuführen. Die neutrophile Granulozyten von MDS-Patienten z.B. exprimieren weniger CD11b/CD18 Komplex auf ihrer Oberfläche, welcher für die Adhäsion, Migration und Diapedese der neutrophilen Granulozyten verantwortlich ist. Es konnte in *in vitro*-Untersuchungen gezeigt werden, dass neutrophile Granulozyten von MDS-Patienten im Vergleich zu Gesunden eine reduzierte bakterizide Funktion aufweisen, was mit einem erhöhten Infektionsrisiko dieser Patienten einhergeht (Lianchi et al. 2012). Außerdem können zytostatische Therapien selbst die Chemotaxis und Phagozytose beeinträchtigen und die Eliminationsfähigkeit der Neutrophilen kompromittieren.

Die prolongierte Aplasie nach intensiver Induktionstherapie bedeutet eine lange Krankenhausbewohnung für die AML-Patienten, die mit einer erhöhten Gefahr für nosokomiale Infektionen einhergeht. Die verbreitete Anwendung von Breitspektrum-Antibiotika erhöht die Selektion von multiresistenten Erregern. Zusätzlich stellt die Verlegung eines AML-Patienten auf die Intensivstation einen Risikofaktor für Infektionen dar. Die Prognose solcher AML-Patienten ist schlecht und die Mortalität hoch. Auch bei den Patienten, die auf die hämatologische Station zurückverlegt werden konnten, besteht die Gefahr der Kolonisation der Patienten mit multiresistenten Keimen von der Intensivstation.

Darüber hinaus stellt die Eisenüberladung bei AML-Patienten aufgrund wiederholter Transfusion von Erythrozytenkonzentraten ein erhöhtes Infektionsrisiko dar.

Möglicherweise beschleunigt das freie Eisen im Serum das Wachstum von Bakterien und Pilzen (Schaible et al. 2004). Außerdem kann freies Eisen eine Schädigung der Schleimhäute des Gastrointestinaltraktes bewirken, was mit einer Beeinträchtigung der physiologischen zellulären Abwehr gegenüber Infektionen einhergeht. In Laboruntersuchungen konnte gezeigt werden, dass Eisen eine erhebliche Rolle für Wachstum und Virulenz von Schimmelpilzen spielt. Bei Patienten mit invasiven Aspergillosen konnte eine Zunahme des Speichereisens nachgewiesen werden (Kontoyiannis et al. 2007).

Zusätzlich können Genpolymorphismen des angeborenen und adaptiven Immunsystems die Anfälligkeit für und den Verlauf von infektiösen Komplikationen beeinflussen. Die Rolle genetischer Mutationen für das Auftreten bakterieller Infektionen bei AML-Patienten wird kontrovers diskutiert (Bhadri et al. 2012). In kürzlich veröffentlichten Studien konnte ihre Rolle bei invasiven Pilzinfektionen beim Versagen des Immunschutzes (Interleukin-10-Produktion, TLR-Polymorphismen, Plasminogen-Gen-Polymorphismen usw.) gezeigt werden (Mezger et al. 2010, Carvalho et al. 2008, Carvalho et al. 2009).

Das Infektionsrisiko ist ferner von der Biologie der AML und der Phase der Erkrankung (Induktions-, Konsolidierungs-, *Salvage*-Therapie) sowie der Subgruppe der AML abhängig. Patienten mit AMLM3 haben grundsätzlich ein geringeres Infektionsrisiko, wahrscheinlich weil die eingesetzten Chemotherapieregime weniger myelotoxisch sind. Aufgrund des insgesamt intensiveren Therapiekonzeptes und der prolongierten Aplasie ist die Zeit nach der Induktionstherapie die gefährlichste im Bezug auf Infektionen.

Zur Chemotherapieapplikation und Gabe von Blutprodukten sowie ggf. parenteralen Ernährung bei AML-Patienten kommen insbesondere zentralvenöse Katheter zum Einsatz. Eine Kolonisation des Katheters mit dermalen und nosokomialer Flora begünstigt eine Infektion durch fakultative pathogene Erreger. Seitdem vermehrt Chinolone prophylaktisch eingesetzt werden, lassen sich fakultativ pathogene Erreger wie z.B. koagulase-negative Staphylokokken und *Candida* bei katheterassoziierten Infektionen vermehrt nachweisen (Raad et al. 2005, Nucci et al. 2010). In einer Patientenkohorte konnte ein fünffach erhöhtes Risiko für die Entwicklung katheterassoziiierter Infektionen nach Anlage eines zentralvenösen Katheters in der schweren Neutropenie nach Chemotherapie nachgewiesen werden (Shaul et al. 1998).

2.3.2 Bedeutung von opportunistischen Infektionen

Sowohl durch die infolge der Grunderkrankung bedingte Neutropenie als auch die therapie-assoziierte Myelosuppression sind AML-Patienten durch Infektionen mit fakultativ pathogenen Erregern gefährdet. In den letzten 10 Jahren zeigte sich unter dem Einsatz von Fluorchinolonen zur Infektionsprophylaxe in der Neutropenie eine Abnahme der Inzidenz von Infektionen durch gramnegative Bakterien und ein Anstieg von Infektionen durch multiresistente Enterokokken und Streptokokken sowie vermehrt Enteritiden durch *Clostridium difficile* (Cruciani et al. 1996; Rolston et al. 2009). Die Inzidenz der invasiven Pilzinfektionen bei anbehandelten AML-Patienten variiert zwischen 5% und 24% (Groll et al. 1996, Denning et al. 1998). In der bereits oben erwähnten Studie von Pagano (Tabelle 3) zur Ätiologie von Fieberepisoden bei AML-Patienten hatten 17,6% der Patienten mit Fieber und 12,4% der gesamten Patientenpopulation eine invasive Pilzinfektion. Die höchste Mortalitätsrate (15,1%) bei AML-Patienten in dieser Kohorte war bei denen mit invasiven Pilzinfektion. Insgesamt sind in den letzten 20 Jahren, seitdem Azole prophylaktisch eingesetzt werden, Candidainfektionen deutlich seltener geworden. Bei einer Neutropeniedauer von mehr als 14 Tagen treten vermehrt Infektionen durch Schimmelpilze auf. Schimmelpilze sind ubiquitär in der Umwelt vorhanden und *Aspergillus* spp., vor allem *Aspergillus fumigatus*, sind am häufigsten vertreten. Bei Infektionen wird zumeist die Lunge befallen, andere Organe wie Nasennebenhöhlen, Gehirn, Gastrointestinaltrakt oder Nieren können ebenfalls befallen sein. Risikofaktoren für die Entwicklung von invasiven pulmonalen Aspergillosen sind fortgeschrittenes Alter, refraktäre Leukämie, *Salvage*-Chemotherapie und prolongierte Anwendung von hochdosierten Kortikosteroiden (Safdar et al. 2001, Safdar et al. 2011, Safdar et al. 2006). Vor der Einführung der neuen Azole (z.B. Voriconazol) verstarben ca. 70 % der Leukämiepatienten mit manifester invasiver Aspergillosen (Lin et al. 2001). Unter den neuen Azolen treten weniger invasive Aspergillosen auf, dennoch zeigte sich ein Selektionsvorteil für andere schwer behandelbare opportunistische invasive Schimmelinfection wie z.B. die seltene angioinvasive Zygomycose (Nucci et al. 2005). Virale opportunistische Infektionen haben insgesamt eine geringe Inzidenz und waren bei ca. 0,4% einer untersuchten AML-Kohorte im Rahmen der Induktionstherapie die Ursache für Fieber (Pagano et al. 2011).

Eine *Pneumocystis jiroveci*-Pneumonie tritt unter einer AML-Induktionstherapie vergleichsweise seltener auf und lässt sich eher unter immunsuppressiver Chemotherapie nachweisen.

2.3.3 Prophylaxe, Diagnostik und Therapie

In den letzten 20 Jahren konnte in mehreren Studien eine Reduktion der Fieberepisoden und dokumentierten Infektionen bei AML-Patienten mit afebriler Neutropenie durch die Durchführung einer prophylaktischen antibiotischen Therapie erzielt werden. Unter der Prophylaxe mit Fluorchinolonen konnten Fieberepisoden, dokumentierte Infektionen und Bakteriämie durch gramnegative und grampositive Bakterien verringert werden. Darauf folgend wurden Fluorchinolone als Prophylaxe bei AML-Patienten mit einer erwarteten und prolongierten sowie schweren Neutropenie (neutrophile Granulozyten $< 0,5$ Gpt/l für über 10 Tage) empfohlen. Zur Schleimhautpflege und Prophylaxe einer Mukositis werden seit Jahren in Deutschland Amphotericin B-Suspension (Ampho-Moronal-Lösung) 4x5 ml (4x500 mg)/d und Spülung mit Panthenol- oder Chlorhexidin-Lösung angewendet. Seit 2008 wird zur Prophylaxe invasiver Pilzinfektionen für AML-Patienten in der Neutropenie nach einer Induktionstherapie Posaconazol empfohlen (Cornely et al. 2009).

Bei einer Spezifität von 90-100% und einer Sensitivität von 80-100% sollte vor der Induktionstherapie und mindestens zweimal pro Woche in der Phase der Neutropenie das Aspergillus-Galactomannan (GM)-Antigen mittels ELISA bestimmt werden. Das GM kann bereits vor dem klinischen Verdacht auf eine Aspergillusinfektion positiv sein und kann ebenfalls zum Monitoring des Therapieerfolges eingesetzt werden (Ruhnke et al. 2011). Falsch-positive Ergebnisse wurden bei bis zu 8% der Patienten, die mit β -lactam-Antibiotika behandelt werden, berichtet (Penack et al. 2008). In der neutropenischen Phase kann ebenfalls die Polymerase Ketten-Reaktion (PCR) auf Aspergillus-DNA durchgeführt werden.

Nach Empfehlung der IDSA (Infectious Disease Society of America) ist eine antivirale Prophylaxe mit Aciclovir nur für HSV (Herpes simplex-Virus) seropositive AML-Patienten während der Induktionstherapie empfohlen.

Da sich die meisten infektiösen Komplikationen zu Beginn als Fieber unbekannten Ursprungs (FUO) manifestierten (Tabelle 3) und weitere klinische Zeichen meist fehlen

sowie eine mikrobiologische Sicherung nicht immer gelingt, ist nach Abnahme von peripheren und zentralvenösen Blutkulturen eine breite empirische antimikrobielle Therapie vor anderen diagnostischen Maßnahmen rasch einzuleiten.

Bei Fieberpersistenz über 72-96 Stunden unter empirischer antimikrobieller Therapie und/ oder bei radiologischem Nachweis bzw. klinischem Hinweis auf Lungeninfiltrate muss zusätzlich ein Computertomogramm (CT) des Thorax innerhalb von 24 Stunden durchgeführt werden. Bei CT-morphologischem Nachweis von Lungeninfiltraten ist eine Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage (BAL) durchzuführen. Eine infiltrative Pilzinfektion wird durch eine Histologie und/oder positive Kultur des entnommenen Gewebes oder sonst steriler Körperflüssigkeiten nachgewiesen. Die klinischen Symptome einer infiltrativen Mykose der Lunge sind relativ unspezifisch. Das klassische radiologische Zeichen (pulmonaler Rundherd mit Halo-Zeichen) ist sehr verdächtig aber nicht spezifisch als Frühzeichen einer invasiven pulmonalen Aspergillose in der Neutropenie zu betrachten. Im Gegensatz zu *Aspergillus* spp. ist der Nachweis von *Candida* spp. in der BAL kein sicherer Hinweis für eine Infektion, sondern eher ein Hinweis auf eine Kolonisation. Der histologische Nachweis spielt hier die entscheidende Rolle (Ben de Pauw et al. 2008).

Bei erstmaligem Auftreten von Fieber in der Neutropenie ohne Infektfokus ist eine empirische Therapie mit einem *Pseudomonas*-wirksamen Antibiotikum unter Fortsetzung der antibakteriellen und antifungalen Prophylaxe einzuleiten. Bei Haut- oder Weichteilinfektionen, klinischem Verdacht bzw. Nachweis einer ZVK-Infektion oder Pneumonie sowie klinischer Instabilität soll zusätzlich ein grampositiv wirksames Antibiotikum eingesetzt werden (Alison et al. 2011). Bei Fieberpersistenz über 72-96 Stunden unter obigen therapeutischen Maßnahmen oder zusätzlichem Nachweis von pulmonalen Infiltraten soll Voriconazol oder bei Vorbehandlung bzw. Prophylaxe mit Voriconazol oder Posaconazol liposomales Amphotericin B eingesetzt werden. Die antimykotische Therapie sollte bis zur hämatopoetischen Erholung und bis zum Abklingen der klinischen und radiologischen Infektionszeichen, die antibiotische Therapie bis zur Fieberfreiheit über 7 Tage fortgeführt werden (Maschmeyer et al. 2009). Bei Nachweis einer pulmonalen Aspergillose sind Voriconazol oder liposomales Amphotericin B die Antimykotika der ersten Wahl, während bei der Zygomycose hochdosiertes liposomales Amphotericin B vorzuziehen ist. Bei invasiven *Candida*-

infektion stehen Echinokandine oder liposomales Amphotericin B zur Verfügung (Böhme et al. 2009).

Tabelle 3: Fieber in der Neutropenie bei 747 AML Patienten (Pagano et al. 2011)

Focus	Anzahl der Fieberereignisse (%)	Todesfälle je Focus (%)
FUO	208 (39,4)	10 (4,8)
Bakterien	203 (38,4)	10 (4,9)
Pilze	73 (13,8)	11 (15,1)
Viren	2 (0,4)	0
Gemischte	21 (4,0)	3 (14,3)
Pilze+ Bakterien	19	
Bakterien+Viren	1	
Pilze + Viren	1	

3 Ziele der Arbeit

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit bestand in der Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Polymorphismen des NOD2-Gens und infektiologischen Komplikationen nach Induktionstherapie bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie.

Die Arbeit gliederte sich hierzu in zwei Teile: so erfolgte zunächst eine retrospektive Analyse von 131 neudiagnostizierter AML-Patienten auf das Vorhandensein der drei häufigsten NOD2-Polymorphismen (Arg702Trp, Gly908Arg, Leu1007fsinsC) bei nachfolgend durchgeführter intensiven Chemotherapie im Zeitraum von 1999 bis 2008. Die Mutationsanalysen wurden an asservierten Proben (peripheres Blut, Knochenmark) mittels PCR und sondenbasierten Schmelzkurvenanalysen durchgeführt.

Im zweiten Teil sollten die infektiösen Komplikationen der AML-Patienten nach der intensiven Induktionstherapie dokumentiert werden. Nahezu alle 131 Patienten erhielten eine Induktionstherapie mit Cytarabin und entweder Idarubicin oder Mitoxantron: Idarubicin 12 mg/m^2 (Tag 1-3) oder Mitoxantron 10 mg/m^2 (Tag 1-3) und Cytarabine 1 g/m^2 q12 (Tag 1, 3, 5 und 7) in kurativer Absicht. Von den 131 untersuchten Patienten erhielten vier entweder eine Reinduktionstherapie oder eine *Salvage*-Therapie bei Rezidiv bzw. therapierefraktärer AML.

Die folgenden klinischen Parameter der Patienten wurden erhoben: Geschlecht, Alter, AML- Subtyp und Zytogenetik, laborchemische Parameter bei der Diagnosestellung (Leukozyten, Thrombozyten, Hämatokrit, Blastenanteil im Knochenmark und im peripheren Blut), Dauer der Neutropenie, Fieberepisoden in der Neutropenie sowie Dauer der jeweiligen Fieberepisode, Einsatz von Granulozyten-Kolonie-stimulierendem Faktor (G-CSF), die zugrunde liegenden infektiösen Ereignisse und die diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen, die antiinfektiöse (antibakterielle und antimykotische) Prophylaxe in der fieberfreien Phase der krankheitsbedingten und therapieassoziierten Neutropenie. Ferner wurden die Schwere der infektiösen Ereignisse (SIRS, Sepsis, schwere Sepsis) und die Resultate der Induktionstherapie sowie der Zeitpunkt des Rezidivs dokumentiert.

Die statistischen Auswertungen erfolgten mit dem "Statistical Program for Social Science" (SPSS, Chicago, IL). Die Signifikanzberechnungen wurden mit dem Fischer-Exakt *t*-test durchgeführt. Als signifikant wurde $p \leq 0,05$ angesehen.

4 Publiizierte Originalarbeit

Impact of NOD2 polymorphisms on infectious complications following chemotherapy in patients with acute myeloid leukaemia. Olaposi Yomade, Bärbel Spies-Weisschart, Anita Glaser, Ulf Schnetzke, Andreas Hochhaus, Sebastian Scholl. Annals of Hematology 2013, DOI 10.1007/s00277-013-1734-0

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen Polymorphismen des angeborenen Immunsystems (verschiedene SNPs von NOD2) und infektiösen Komplikationen untersucht. In den bislang nur wenigen zu dieser Thematik publizierten Studien konnte keine Korrelation zwischen klinischen Ereignissen, z.B. Sepsis oder Pilzinfektionen und den jeweils untersuchten Polymorphismen nachgewiesen werden (Klostergaard et al. 2010, Choi et al. 2005). Die wenigen bekannten Daten über NOD2-Polymorphismen bei Leukämie-Patienten sind auf das Auftreten und die Schwere der "Graft versus host"-Erkrankung nach allogener Stammzelltransplantation beschränkt (Holler et al. 2004, Elmaagacli et al. 2006).

Die Proteine der NOD2-Familie stellen eine der wichtigsten Gruppe von intrazellulären Mustererkennungsrezeptoren des angeborenen Immunsystems dar und sind sowohl in hämatopoetischen Zellen (z.B. Monozyten und neutrophile Granulozyten) als auch in epithelialen Zellen wie bspw. den Paneth-Zellen des Dünndarms exprimiert (Gutierrez et al. 2002, Lala et al. 2003).

NOD2 erkennt Muramyldipeptide (MDP) von sowohl gramnegativen als auch grampositiven Bakterien und ist daher der Hauptsensor für intrazelluläre Bakterien. Nach Stimulation durch MDP bewirkt die Aktivierung von NOD2 eine Reihe von NFκB-vermittelten proinflammatorischen Reaktionen (Giradini et al. 2001, Giradini et al. 2003a, Giradini et al. 2003b). Darauf folgend werden die Produktion von Zytokinen wie z.B. TNF-α, IL-12p70, IL-6 und IL-10 sowie von Chemokinen wie z.B. IL-8 (CXCL8) ermöglicht (Bertrand et al. 2009, Watanabe et al. 2004). Durch die Sekretion von Chemokinen wird wiederum durch Chemotaxis die Einwanderung anderer hämatopoetischer Zellen z.B. neutrophile Granulozyten, Monozyten und Leukozyten gefördert, um eine rasche und beschleunigte Elimination der betroffenen Zellen zu ermöglichen. Neben der durch die bakteriellen MDP übermittelten NOD2-Stimulation wird bei viraler Infektion mit RSV, VSV oder Influenza A ebenfalls über NOD2 die Produktion von Typ-1-Interferon stimuliert. Außerdem können auch MDP-unabhängige Parasiten durch NOD2 erkannt werden (Shaw et al. 2009).

Dieses Mukosa-assoziierte angeborene Immunsystem könnte eine wichtige Rolle in der Phase der Neutropenie spielen und bei Mutationen des NOD2-Gens gestört sein (Lecat

et al. 2010, Kaser et al. 2011).

Akute myeloische Leukämien sind klonale Erkrankungen der hämatopoetischen Zellen, welche durch genetische Veränderungen entstehen und zu einer Beeinträchtigung der Differenzierung und Proliferation der hämatopoetischen Zellen führen. Definitionsgemäß müssen dabei mindestens 20% leukämische Blasten im Knochenmark oder Blut nachweisbar sein. Auch wenn die zytogenetische sowie molekulargenetische Typisierung der leukämischen Blasten die Prognose hinsichtlich der Rezidivfreiheit und des Gesamtüberlebens der AML-Patienten am meisten beeinflusst, so stellt die Phase der Neutropenie während und nach intensiver Chemotherapie auf Grund möglicher infektiologischer Komplikationen ebenfalls einen wesentlichen Prognosefaktor für AML-Patienten dar. Die Neutropenie bei AML ist sowohl auf die medulläre Infiltration mit blastären Zellen und resultierender Verdrängung der normalen Hämatopoese als auch auf die chemotherapie-induzierte Knochenmarkdepression zurückzuführen.

Neutropenie-bedingte Infektionen bleiben unangefochten die Hauptursache für die Mortalität und Morbidität der AML-Patienten und stellen bis zu 70% der Todesursachen dar. Das Infektionsrisiko vor allem bei AML-Patienten mit vorangegangennem MDS wird zusätzlich durch die funktionelle Neutropenie erhöht. Im Bezug auf die Schwere und Dauer der Neutropenie wird diese für AML-Patienten unter intensiver Chemotherapie als Hochrisiko-Situation klassifiziert.

Wir stellten die Hypothese auf, dass SNPs von NOD2 mit einer höheren Rate an Infektionen in der Phase der schweren Neutropenie nach Induktionschemotherapie bei Patienten mit AML einhergehen.

Es wurden 131, im Zeitraum von 1999 bis 2008, neudiagnostizierte und nachfolgend intensiv behandelte AML-Patienten retrospektiv auf die drei häufigsten NOD2-Mutationen (Arg 702Trp, Gly908Arg und Leu 1007fsinsC) untersucht. Die Mutationsanalysen wurden an asservierten Proben (peripheres Blut, Knochenmark) mittels PCR und sondenbasierten Schmelzkurvenanalysen durchgeführt.

Nahezu alle 131 Patienten erhielten eine Induktionstherapie mit Cytarabin und entweder Idarubicin oder Mitoxantron: Idarubicin 12 mg/m^2 (Tag 1-3) oder Mitoxantron 10 mg/m^2 (Tag 1-3) und Cytarabine $1 \text{ g/m}^2 \text{ q12}$ (Tag 1, 3, 5 und 7) in kurativer Absicht. Von den 131 untersuchten Patienten erhielten vier entweder eine Reinduktionstherapie oder eine *Salvage*-Therapie bei Rezidiv bzw. therapierefraktärer AML.

Die folgenden klinischen Parameter der Patienten wurden erhoben: Geschlecht, Alter, AML- Subtyp und Zytogenetik, laborchemische Parameter bei der Diagnosestellung (Leukozyten, Thrombozyten, Hämatokrit, Blastenanteil im Knochenmark und im peripheren Blut), Dauer der Neutropenie, Fieberepisoden in der Neutropenie sowie Dauer der jeweiligen Fieberepisode, Einsatz von Granulozyten-Kolonie-stimulierendem Faktor (G-CSF), die zugrunde liegenden infektiösen Ereignisse und die diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen, die antiinfektiöse (antibakterielle und antimykotische) Prophylaxe in der fieberfreien Phase der krankheitsbedingten und therapieassoziierten Neutropenie. Ferner wurden die Schwere der infektiösen Ereignisse (SIRS, Sepsis, schwere Sepsis) und die Resultate der Induktionstherapie sowie der Zeitpunkt des Rezidivs dokumentiert.

Bei 29 von den insgesamt 131 untersuchten AML-Patienten (22,1%) wurden SNPs des NOD2-Gens nachgewiesen. In großen epidemiologischen Studien (Hugot et al. 2007) wurde in Kohorte mit insgesamt 3757 gesunden Kaukasiern nach den drei häufigsten NOD2-Mutationen (Arg702Trp, Gly908Arg und Leu1007fsinsC) untersucht. Insgesamt konnte bei 554 (14,7%) der Kohorte SNPs des NOD2-Gens nachgewiesen werden. Bei 18 (0,5%) der gesamten Kohorte zeigte sich eine zweifache NOD2-Mutation. Eine Homozygotie für SNPs von NOD2 wurde bei 0,16% der Untersuchten (6 von 3757 Gesunden) nachgewiesen.

Es konnten dennoch auch starke regionale Unterschiede hinsichtlich der Häufigkeit verschiedener NOD2-Mutationen beobachtet werden, so z.B. in England (Cambridge) mit 21,6% (76 Mutationen bei 351 Gesunden), Finnland mit 7% (21 Mutationen bei 300 Gesunden), Italien mit 15,1% (31 bei 205 Gesunden) und Deutschland mit 18% (66 bei 370 Gesunden). In dieser untersuchten Population von 3757 Gesunden wurden insgesamt in 8,6% der Fälle Arg702Trp-Mutationen, in 2,34% Gly908Arg-Mutationen und in 4,6% Leu1007-Mutationen nachgewiesen. In Deutschland konnten Mutationen von Arg702Trp bei 9%, von Gly908Arg bei 1,35% und von Leu1007 bei 7,5% der Untersuchten detektiert werden.

In der von uns untersuchten Gruppe von AML-Patienten konnten die beiden NOD2-"missense"-Mutationen (Arg702Trp und Gly908Arg) bei 9,2% bzw. 1,5% nachgewiesen werden, während die Mutation Leu1007fsinsC bei 12,2% der 131 untersuchten AML-Patienten gefunden wurde. Bezogen auf alle 131 AML-Patienten wurden in zwei Fällen

homozygote Mutationen (1,50%) sowie zusätzlich eine „compound-heterozygote“ Mutation (0,76%) nachgewiesen. Insgesamt zeigte sich eine sehr hohe Übereinstimmung zwischen unseren Mutationsanalysen und den oben erwähnten Daten aus einer großen epidemiologischen Studie in Deutschland. Die Differenz bezüglich der Mutationshäufigkeit von Leu1007fsinsC (12,2% vs. 7,5%) ist am ehestens auf die geringere Patientenzahl (133 vs. 370) in der von uns untersuchten Gruppe von AML-Patienten zurückzuführen.

Infektiöse Komplikationen - sowohl aufgrund der medullären Infiltration mit leukämischen Blasten (mit resultierender Neutropenie) als auch wegen der stark myelotoxischen Induktionstherapie - sind die Hauptursache für die therapie-assoziierte Mortalität und Morbidität von AML-Patienten (Böhme et al. 2000, Segal et al. 2007). Pagano und Kollegen konnten zeigen, dass in der neutropenischen Phase der AML-Induktionstherapie vor allem bakterielle Infektionen (38,4%) nachgewiesen werden. Auch wenn deutlich weniger invasive Pilzkrankungen (17,6%) nachgewiesen wurden, haben Patienten mit invasiver Pilzinfektion in dieser AML-Kohorte die höchste Mortalitätsrate (15,1%) (Pagano et al. 2011).

In unserer untersuchten AML-Kohorte waren in beiden Subgruppen sowohl die durchschnittliche Dauer der Neutropenie (23 vs. 20 Tage) als auch die Anzahl der Fiebertage (5 vs. 4 Tage) praktisch identisch mit im Mittel nur einer Fieberepisode pro Patient. Ein erneuter Fieberanstieg nach drei Tagen Fieberfreiheit wurde als neue Fieberepisode definiert.

Zur antibiotischen Prophylaxe bei AML-Patienten mit einer zu erwartenden schweren Neutropenie werden seit langem Fluorchinolone eingesetzt, da darunter Fieberepisoden, dokumentierte Infektionen und Bakteriämien durch gramnegative und grampositive Bakterien verringert werden konnten (Alison et al. 2011). In der jüngst veröffentlichten Empfehlung der AGIHO (Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie) und DGHO (Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie) zur primären Prophylaxe bakterieller Infektionen bei Patienten mit hämatologischer Erkrankungen in der schweren Neutropenie gelten Fluorchinolone - vor allem Ciprofloxacin - weiterhin als Mittel der ersten Wahl (Neumann et al. 2013).

In unserer Patientenkohorte kamen Fluorchinolone (Ciprofloxacin) als antibiotische Prophylaxe in der Neutropenie in beiden AML-Gruppen mit gleicher Häufigkeit (69% vs.

72%) zum Einsatz.

Seit der Einführung der neuen Azole wie z.B. Posaconazol als antimykotische Prophylaxe bei AML-Patienten in der Neutropenie konnte im Vergleich zum bisherigen Standard (Fluconazol oder Itraconazol) eine Reduktion der Inzidenz der wahrscheinlichen und gesicherten invasiven Pilzinfektionen - vor allem der invasiven pulmonalen Aspergillose - erzielt werden. Außerdem zeigte sich ein verbessertes Gesamtüberleben zu Gunsten der mit Posaconazol prophylaktisch behandelten Patienten (Cornely et al. 2005). In unserer untersuchten AML-Kohorte wurde Fluconazol als antimykotische Prophylaxe in beiden Gruppen mit gleicher Häufigkeit (89,2% vs. 96,6%) eingesetzt. Auch wenn in der Patientengruppe ohne SNPs von NOD2 prozentual häufiger Pilzpneumonien nachzuweisen war (11,8% vs. 6,9%), so war dieser Unterschied statistisch nicht signifikant. Insgesamt traten Pneumonien in beiden Gruppen mit gleicher Häufigkeit auf (29,4% vs. 27,6%).

Bezüglich des Einsatzes von G-CSF bei schweren Infektionen mit klinischen Situationen mit verzögerter hämatopoetischer Rekonstitution, um die Dauer der schweren Neutropenie zu verkürzen, zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede (3,9% vs. 3,5%).

In mehreren Studien wurde bei NOD2 "knock-out"-Mäusen eine erhöhte Anfälligkeit für eine experimentale Kolitis und experimentale GvHD beschrieben, welche zum Teil auf eine gesteigerte inflammatorische T-Zell-Antwort durch die NOD2-defizienten antigen-präsentierenden Zellen zurückzuführen ist (Penack et al. 2009, Watanabe et al. 2008, Strober et al. 2006, Yang et al. 2007). Die verminderte Sensitivität der Paneth-Zellen und Enterozyten von NOD2 "knock-out"-Mäusen auf MDPs hat gestörte epitheliale Abwehrmechanismen, eine erhöhte bakterielle Belastung sowie eine gesteigerte mukosale Inflammation zur Folge (Fritz et al. 2006). Eine gesteigerte NFκB-Aktivierung durch bakterielle MDPs konnte bei Homozygotie für die NOD2-Variante Leu1007fs bei Mäusen nachgewiesen werden. Infolgedessen kommt es zu einem erhöhten Risiko für eine bakteriell-induzierte intestinale Inflammation mit einer gestörten intestinalen Integrität (Maede et al. 2005). Dabei konnte eine gesteigerte Produktion von Zytokinen nicht bewiesen werden (van Heel et al. 2005).

Bei Patienten mit Leberzirrhose konnte bei Vorhandensein einer NOD2-Mutation ein erhöhtes Risiko für eine kultur-positive spontane bakterielle Peritonitis nachgewiesen

werden (Appenrodt et al. 2010, Bruns et al. 2012). Dies traf für alle der untersuchten Polymorphismen zu. Von mehreren Studiengruppen wurde ebenfalls ein erhöhtes Risiko für eine spontane bakterielle Peritonitis bei Mutationen des TLR2-Gens bei Patienten mit Leberzirrhose beschrieben (Nischalke et al. 2011, Bruns et al. 2012)

In der Behandlung der AML-Patienten, die eine allogene Stammzelltransplantation erhielten, wurde bei Vorhandensein einer TLR4-Mutation sowohl beim Spender als auch beim Patienten ein erhöhtes Risiko für eine schwere GvHD und hier insbesondere intestinale GvHD beschrieben. Unter der prophylaktischen Gabe von Metronidazol und Ciprofloxacin konnte die Inzidenz der schweren und intestinalen GvHD erheblich gesenkt werden (Elmaagacli et al. 2006).

Interessanterweise wurde bei unseren untersuchten NOD2-mutierten AML-Patienten ein gleichzeitiges Auftreten einer Mukositis bzw. Enteritis sowie von Fieber in der schweren neutropenischen Phase nicht beobachtet. Dagegen konnte bei 16,7% der AML-Patienten ohne Nachweis eines SNPs von NOD2 in der schweren Neutropenie eine Mukositis oder Enteritis in Verbindung mit Fieber dokumentiert werden. Dabei wurden in der Stuhlkultur Clostridium- difficile-Enterotoxin bei vier Patienten und Rota- bzw. Adenoviren bei einem Patienten in der Gruppe von AML-Patienten ohne NOD2-SNP nachgewiesen. Außerdem wurden bei 10,8% (11 von 102) der Patienten in der unmutierten Gruppe Enterokokken spp. - im Vergleich zu 6,9% (2 von 29) von der NOD2-mutierten Gruppe - nachgewiesen.

Dennoch muss erwähnt werden, dass bei 30,4% (31 von 102 Patienten) vs. 20,7% (6 von 29 Patienten) der AML-Patienten eine sofortige antibiotische Therapie mit Metronidazol unter Fortsetzung der oralen Darmdekontamination mit Ciprofloxacin beim Auftreten von Diarrhoen oder bei Mukositis in der Neutropenie entweder in Assoziation mit der Gabe von Antibiotika /Chemotherapie oder im Sinne einer fieberhaften Gastroenteritis eingeleitet wurde, so dass sich unter der Gabe von Metronidazol kein signifikante Unterschied ($p=0,36$) bezüglich die klinische Beobachtung einer manifesten Mukositis oder Enteritis zwischen den beiden untersuchten AML-Gruppen nachgewiesen werden konnte. Dieses Ergebnis stimmt mit der bereits oben erwähnten Beobachtung bei TLR4-mutierten AML-Patienten mit schwerer und intestinaler GvHD nach allogener Stammzelltransplantation überein, die prophylaktisch mit der so genannten "totalen oralen Darmdekontamination" bestehend aus Metronidazol und

Ciprofloxacin behandelt wurden. Der fehlende Keimnachweis und die Fieberfreiheit bei den sechs mutierten AML- Patienten mit klinisch manifester Mukositis oder Enteritis sind am ehesten auf die niedrige Patientenzahl in unserem gesamten Kollektiv zurückzuführen.

Außerdem tritt unter dem intermediär dosierten Cytarabin gehäuft eine klinisch relevante gastrointestinale Toxizität mit einer erhöhten Gefahr für eine nekrotisierende Kolitis auf. Unter der Kombinationstherapie von Cytarabin mit Idarubicin ist das Risiko für eine Kolitis in der Neutropenie deutlich erhöht (Hogan et al. 2002, Camera et al. 2003).

Numerisch haben nur wenige Patienten in unserer untersuchten NOD2-mutierten AML-Gruppe (6,9%) im Vergleich zur Wildtyp-Gruppe (9,8%) neutropenisches Fieber entwickelt, was einen nicht-signifikanten Unterschied bei niedrigen Patientenzahlen darstellt.

In der Behandlung von AML-Patienten spielen schwere virale Infektionen oder Reaktivierungen (z.B. HSV oder CMV) eine untergeordnete Rolle. In der großen epidemiologischen Untersuchung zu infektiösen Komplikationen bei AML-Patienten von Pagano wurde in nur 0,4% der Fälle bei insgesamt 747 Patienten eine virale Infektion als Ursache der Fieber in der Neutropenie nachgewiesen, was keine Erhöhung der Mortalität zur Folge hatte (Pagano et al. 2011).

In der von uns untersuchten AML-Kohorte konnte eine lokale Herpes labialis-Infektion bei 14,7% (15 von 102 Patienten) der Wildtyp-Gruppe und bei nur 0,35% (1 von 29 Patienten) in der NOD2-mutierten Gruppe nachgewiesen werden. Dennoch erreicht dieser Unterschied keine statistische Signifikanz. Eine CMV-Reaktivierung wurde bei keinen einzigen Patienten nachgewiesen. Eine behandlungspflichtige Herpes zoster-Reaktivierung wurde bei einem Patienten in der NOD2-Wildtyp-Gruppe nachgewiesen. Insgesamt konnten keine schweren viralen Infektionen in unserer Kohorten nachgewiesen werden.

Wie virale Infektionen treten Infektionen durch *Pneumocystis jiroveci* gehäuft und praktisch ausschließlich unter immunsuppressiver Therapie auf und kommen bei AML-Patienten in der Neutropenie eher selten vor. Die zur Induktionschemotherapie angewendeten zytostatischen Substanzen sind zwar stark myelotoxisch, dennoch ist eine Prophylaxe der *Pneumocystis jirovecii*-Pneumonie aufgrund noch ausreichender Lymphozytenpopulationen mit resultierend eher geringem Infektionsrisiko nicht

unbedingt erforderlich (Neumann et al. 2013). In unserem Patientenkollektiv wurde nur bei einer einzigen Patientin eine *Pneumocystis jirovecii*-Pneumonie (in der NOD2-Wildtyp-Gruppe) nachgewiesen.

Untersuchungen haben ergeben, dass NOD2-Mutationen ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung einer nosokomialen Sepsis darstellt (Squambato et al. 2005). Besonders für die NOD2-Variante Leu1007fsinsC konnte eine erhöhte Frühmortalität bei Patienten mit septischem Krankheitsbild demonstriert werden (Brenmoehl et al. 2007). Bei Patienten auf Intensivstationen ist bei Vorhandensein einer NOD2-Mutation das Risiko einer Bakteriämie sowie eines schweren Verlaufs erhöht (Henckaerts et al. 2009). Ebenfalls wurden bei anderen Polymorphismen des angeborenen Immunsystems Korrelationen mit septischen Komplikationen beschrieben. Eine erhöhte Prädisposition für grampositive Infektionen und Organdysfunktion sowie Tod in der Sepsis konnte bei Patienten mit SNPs des TLR1-Gens nachgewiesen werden (Wurfel et al. 2008).

In der Behandlung von Patienten mit chemotherapieinduzierter Neutropenie sind bis jetzt nur wenige Daten hinsichtlich einer möglichen Korrelation zwischen Infektionsrisiko und Polymorphismen des angeborenen Immunsystems bekannt. Bei Patienten mit Polymorphismen der MBL-Proteine ("Mannose-binding-lectin") konnte keine signifikant erhöhte Infektionsrate im Vergleich zu Patienten mit Wildtyp nachgewiesen werden (Wong et al. 2012). Kloostergard et al. untersuchten die mögliche Assoziation zwischen infektiösen Komplikationen bei 190 AML-Patienten, welche eine intensive Induktionstherapie erhalten haben und gleichzeitig Polymorphismen der Chitotriosidase (CHIT)- und MBL-Gene besitzen. Es konnte ebenfalls keine Korrelationen zu den septischen Ereignissen in einer Beobachtungszeit von bis zu 6 Monaten nach der Induktionstherapie nachgewiesen werden.

In unserer untersuchten AML-Kohorte entwickelten 65 von 102 (63,7%) der NOD2-unmutierten und 19 von 29 (65,5%) der NOD2-mutierten Patienten eine Sepsis. Ein vergleichbares Ergebnis konnte ebenfalls für das Auftreten eines SIRS (systemisches inflammatorisches Response-Syndrom) mit 49% für die Wildtyp-Gruppe vs. 55% für die NOD2-mutierte Gruppe nachgewiesen werden. Zwei Patienten mit NOD2-Wildtyp sind am Tag 14 bzw. Tag 18 der Induktionstherapie aufgrund einer schweren Sepsis in der Neutropenie verstorben. Dagegen war kein letaler Ausgang im Rahmen der Induktionstherapie in der Patientengruppe mit NOD2-SNPs zu beobachten. Dieser

Unterschied ist als nicht signifikant zu werten und die Studie weist keine ausreichende statistische Power auf, diese Frage zu beantworten.

Bezüglich anderer wichtiger infektiöser Komplikationen wie z.B. Harnwegsinfektion (2,9% vs. 3,3%) und Infektionen der zentralenvenösen Katheter (29,4% vs. 24,1%) konnte ebenfalls keine relevante Assoziation mit SNPs des NOD2-Gens nachgewiesen werden.

Im Bezug auf positive Keimnachweise - sowohl zentrale als auch periphere Blutkulturen - wurden koagulase-negative Staphylokokken spp. in fast identischer Häufigkeit (26.5 vs. 24.1 %) in beiden Gruppen nachgewiesen.

Interessanterweise konnten in der Neutropenie vermehrt Streptokokken spp. in den Blutkulturen von NOD2-mutierten AML-Patienten (17,2%) im Vergleich zu 3,9% bei AML-Patienten ohne NOD2-Mutation nachgewiesen werden ($p=0,014$). Möglicherweise lässt sich dieses Ergebnis mit publizierten experimentellen Daten aus immunologischen Untersuchungen zur Streptokokken-Pneumonie erklären. NOD2 als wichtiger intrazellulärer Mustererkennungsrezeptor kann Strukturen von internalisierten Pneumokokken erkennen, wodurch die Aktivierung des NF κ B-Signalwegs vermittelt wird. Dieser Mechanismus spielt für die bakterielle Elimination der oberen Atemwege eine entscheidende Rolle (Opitz et al. 2004, Koppe et al. 2012).

Entgegen unserer Arbeitshypothese konnte kein signifikanter Unterschied zwischen wichtigen infektiologischen Komplikationen wie Venenkatheterinfektionen, Harnwegsinfekt, SIRS Sepsis, schwerer Sepsis und insbesondere Pilzpneumonien bei NOD2-mutierten AML-Patienten nachgewiesen werden.

Dennoch konnte eine signifikante Assoziation zwischen SNPs der NOD2-Gene und dem Nachweis von Streptokokken in den Blutkulturen bei AML-Patienten in der Neutropenie nach intensiver Induktionschemotherapie nachgewiesen werden, was eine mögliche Relevanz von NOD2 für die Entwicklung von Streptokokken-Pneumonien bei AML-Patienten vermuten lässt.

6 Schlussfolgerung

In dieser Arbeit zeigte sich eine hohe Übereinstimmung bezüglich der Häufigkeit der NOD2-"missense"-Mutationen (Arg702Trp und Gly908Arg) bei den von uns untersuchten 131 AML-Patienten im Vergleich zu einer großen epidemiologischen Studie mit 370 Gesunden in Deutschland. Dagegen wurden vergleichsweise mehr Patienten mit der NOD-2 Mutation Leu1007fsinsC in unserer AML-Kohorte nachgewiesen.

Bei vergleichbarer Patientencharakteristika in sowohl der NOD2-mutierten und NOD2-unmutierten AML-Gruppe konnte entgegen unserer Arbeitshypothese kein signifikanter Unterschied in das Auftreten von wichtiger infektiöser Komplikationen wie SIRS, Sepsis, schwerer Sepsis, Harnwegsinfekt, Venenkatheterinfektionen und insbesondere Pilzpneumonien nachgewiesen werden.

Es wurde bei unseren untersuchten NOD2-mutierten AML-Patienten ein gleichzeitiges Auftreten einer Mukositis bzw. Enteritis sowie von Fieber in der schweren neutropenischen Phase nicht beobachtet. Dagegen konnte bei 16,7% der AML-Patienten ohne Nachweis eines SNPs von NOD2 in der schweren Neutropenie eine Mukositis oder Enteritis in Verbindung mit Fieber dokumentiert werden. Dieser statistisch signifikante Unterschied verliert jedoch sein Power wenn die Anzahl der AML-Patienten in beiden Gruppen, welche prophylaktisch oder therapeutisch mit Metronidazol, beim Auftreten einer therapie-assoziierten/ infektiösen Mukositis bzw. Enteritis, behandelt wurden, miteinbezogen werden.

Letztlich zeigte sich eine signifikante Assoziation zwischen SNPs der NOD2-Gene und dem Nachweis von Streptokokken in den Blutkulturen bei AML-Patienten in der Neutropenie nach intensiver Induktionschemotherapie, was eine mögliche Relevanz von NOD2 für die Entwicklung von Streptokokken-Pneumonien bei AML-Patienten vermuten lässt.

7 Literatur- und Quellenverzeichnis

Akira S, Uematsu S, Takeuchi O (2006). Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 124: 783-801.

Alison G. Freifeld, Eric J. Bow, Kent A. Sepkowitz, Michael J. Boeckh, James I. Ito, Craig A. Mullen, Issam I. Raad, Kenneth V. Rolston, Jo-Anne H. Young, John R. Wingard (2011). Clinical Practice Guideline for the Use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with Cancer: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* 52: e56-e93.

Appenrodt B, Grünhage F, Gentemann MG, Thyssen L, Sauerbruch T, Lammert F (2010). Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (NOD2) variants are genetic risk factors for death and spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *Hepatology* 51:1327-33.

Battistini A (2009). Interferon regulatory factors in hematopoietic cell differentiation and immune regulation. *Journal of Interferon & Cytokine Research* 29: 765-80.

Ben De Pauw, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, Pappas PG, Maertens J, Lortholary O, Kauffman CA, Denning DW, Patterson TF, Maschmeyer G, Bille J, Dismukes WE, Herbrecht R, Hope WW, Kibbler CC, Kullberg BJ, Marr KA, Munoz P, Odds FC, Perfect JR, Restrepo A, Ruhnke M, Segal BH, Sobel JD, Sorrell TC, Viscoli C, Wingard JR, Zaoutis T, Bennet JE (2008). Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clinical Infectious Diseases* 46:1813-21.

Bennett CL, Hynes D, Godwin J, Stinson TJ, Golub RM, Appelbaum FR (2001). Economic analysis of granulocyte colony stimulating factor as adjunct therapy for older

patients with acute myelogenous leukemia (AML): estimated from a Southwest Oncology Group clinical trial. *Cancer Investigation* 19: 603-10.

Bertrand MJM, Doiron K, Labbe K, Korneluk RG, Barker PA, Saleh M (2009). Cellular inhibitors of apoptosis cIAP1 and cIAP2 are required for innate immunity signaling by the pattern recognition receptors Nod1 and Nod2. *Immunity* 30: 789-801.

Bhadri VA, Beckett SM, Duncan C, Marschall GM, Asthon LJ (2012). Variation in Toll-like receptor 9 gene modifies the risk of infection in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia and Lymphoma* 53: 1828-1830.

Bodey GP (1966). Infectious complications of acute leukemia. *Medical Times* 94: 1076-1085.

Bodey GP (1997). The treatment of febrile neutropenia: from the Dark Ages to the present. *Support Care Cancer* 5: 351-7.

Böhme A, Karthaus M, Hoelzer D (2000). Antifungal prophylaxis in neutropenic patients with hematologic malignancies. *Antibiotics and Chemotherapy* 50: 69-78.

Böhme A, Ruhnke M, Buchheidt D, Cornely OA, Einsele H, Enzensberger R, Hebart H, Heinz W, Junghanss C, Karthaus M, Krüger W, Krug U, Kubin T, Penack O, Reichert D, Reuter S, Silling G, Südhoff T, Ullmann AJ, Maschmeyer G (2009). Treatment of invasive fungal infections in cancer patients - Recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology. *Annals of Hematology* 88: 97-110.

Boneca IG, Dussurget O, Cabanes D, Nahori MA, Sousa S, Lecuit M (2007). A critical role for peptidoglycan N-deacetylation in *Listeria*: evasion from the host innate immune system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 997-1002.

Bow EJ (2005). Management of the febrile neutropenic cancer patient: lessons from 40 years of study. *Clinical Microbiology and Infections* 11: 24-29.

Brandl K, Plitas G, Mihu CN, Ubeda C, Jia T, Fleischer M, Schnabl B, DeMatteo RP, Pamer EG (2008). Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. *Nature* 455: 804-807

Brenmoehl J, Herfarth H, Glück T, Audebert F, Barlage S, Schmitz S, Froehlich D, Schreiber S, Hampe J, Schölmerich J, Holler E, Rogler G (2007). Genetic variants in the NOD2/CARD15 431 gene are associated with early mortality in sepsis patients. *Intensive Care Medicine* 33:1541-1548.

Bruns T, Peter J, Reuken PA, Grabe DH, Schuldes SR, Brenmoehl J, Schölmerich J, Wiest R, Stallmach A (2012). NOD2 gene variants are a risk factor for culture-positive spontaneous bacterial peritonitis and monomicrobial bacterascites in cirrhosis. *Liver International* 32: 223-230.

Bruns T, Reuken RA, Fischer J, Berg T, Stallmach A (2012). Further evidence for the relevance of TLR2 gene variants in spontaneous bacterial peritonitis. *Journal of Hepatology* 56: 1207-1217

Burns KA, Martinon F (2004). Inflammatory diseases: is ubiquitinated NEMO at the hub ? *Current Biology* 14: R1040-1042.

Camera A, Andretta C, Villa MR, Volpicelli M, Picardi M, Rossi M, Rinaldi CR, Della CP, Ciancia R, Selleri C, Rotoli B (2003). Intestinal toxicity during induction chemotherapy with cytarabine-based regimens in adult acute myeloid leukemia. *The Hematology Journal* 4: 346-350.

Carvalho A, Cunha C, Carotti A, Aloisi T, Guarrera O, Di Ianni M, Falzetti F, Bistoni F, Aversa F, Pitzurra L, Rodrigues F, Romani L (2009). Polymorphisms in Toll-like receptor

genes and susceptibility to infections in allogeneic stem cell transplantation. *Experimental Hematology* 37:1022-1029.

Carvalho A, Pasqualotto AC, Pitzurra L, Romani L, Denning DW, Rodrigues F (2008). Polymorphisms in Toll-like receptor genes and susceptibility to pulmonary aspergillosis. *Journal of Infectious Disease* 197: 618-621.

Chamaillard M, Hashimoto M, Horie Y, Masumoto J, Qiu S, Saab L (2003). An essential role for Nod1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid. *Nature Immunology* 4: 702-707.

Chamaillard M, Philpott D, Girardin SE, Zouali H, Lesage S, Chareyre F (2003). Gene-environment interaction modulated by allelic heterogeneity in inflammatory diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 3455-3460.

Chatzinikolaou I, Abi-Said D, Bodey GP, Rolston KV, Tarrand JJ, Samonis G (2000). Recent experience with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in patients with cancer: retrospective analysis of 245 episodes. *Archives of Internal Medicine* 160: 501-9.

Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, Büchner T, Willman CL, Estey EH, Schiffer CA, Doehner H, Tallman MS, Lister TA, Lo-Coco F, Willemze R, Biondi A, Hiddemann W, Larson RA, Löwenberg B, Sanz MA, Head DR, Ohno R, Bloomfield CD (2003). Revised Recommendations of the international Group of Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *Journal of Clinical Oncology* 24: 4642-4649.

Choi EH, Taylor JG, Foster CB, Walsch TJ, Anttila TJ, Ruutu T, Palotie A, Chanock SJ (2005). Common polymorphisms in critical genes of innate immunity do not contribute to the risk for chronic disseminated candidiasis in adult leukemia patients. *Medical Mycology* 43: 349-353.

Clarke TB, Davis KM, Lysenko ES, Zhou AY, Yu Y, Weiser JN (2010). Recognition of peptidoglycan from the microbiota by Nod1 enhances systemic innate immunity. *Nature Medicine* 16: 228-31.

Cornely OA, Maertens J, Winston D, et al. (2005). Standard azole (FLU/ITZ) therapy for prophylaxis of invasive fungal infections (IFIs) among high-risk neutropenic patients: results of a randomized, multicenter trial [abstract]. In: 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology; 9-13 December Atlanta. Washington, DC. Abstract 1844.

Cornely OA, Maertens J, Winston D, et al. (2005). Posaconazole vs standard azoles as antifungal prophylaxis in neutropenic patients with acute myelogenous leukaemia or myelodysplastic syndrome: impact on mortality [abstract]. In: 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 16- 19 December 2005; Washington, DC. Washington DC: American Society for Microbiology. 2005. Abstract 722b.

Cornely OA, Böhme A, Buchheidt D, Einsele H, Heinz WJ, Karthaus M, Krause SW, Krüger W, Maschmeyer G, Penack O, Ritter J, Ruhnke M, Sandherr M, Sieniawski M, Vehreschild JJ, Wolf HH, Ullmann AJ (2009). Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies. Recommendations of the Infectious Diseases Working Party of the German Society for Haematology and Oncology. *Haematologica* 94: 113-122.

Cooney R, Baker J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P (2010). Nod2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nature Medicine* 16: 90-97.

Cruciani M, Rampazzo R, Malena M, Lazzarini L, Todeschini G, Messori A, Concia E (1996). Prophylaxis with fluoroquinolones for bacterial infections in neutropenic patients: a metaanalysis. *Clinical Infectious Disease* 23: 795-805.

da Silva Correia J, Miranda Y, Leonard N, Hsu J, Ulevitch RJ (2006). Regulation of Nod1-mediated signalling pathways. *Cell Death and Differentiation* 14: 830-839.

Divangahi M, Mostowy S, Coulombe F, Kozak R, Guillot L, Veyrier F(2008). Nod2-deficient mice have impaired resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection through defective innate and adaptive immunity. *Jornal of Immunology* 181: 7157-7165.

Denning DW, Marinus A , Cohen J, Spence D, Herbrecht R, Pagano L, Kibbler C, Kermery V, Offner F, Codonnier C, Jehn U, Ellis M, Collette L, Sylvester R (1998). An EORTC multicentre prospective survey of invasive aspergillosis in haematological patients: diagnosis and therapeutic outcome. EORTC Invasive Fungal Infections Cooperative Group. *Journal of Infection* 37:173-180.

Döhner Hartmut, Elihu H. Estey, Sergio Amadori, Frederick R. Appelbaum, Thomas Büchner, Alan K. Burnett, Hervé Dombret, Pierre Fenaux, David Grimwade, Richard A. Larson, Francesco Lo-Coco, Tomoki Naoe, Dietger Niederwieser, Gert J. Ossenkoppele, Miguel A. Sanz, Jorge Sierra, Martin S. Tallman, Bob Löwenberg, Clara D. Bloomfield (2010). Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 115: 453-474.

Elmaagacli AH, Koldehoff M, Hindahl H (2006). Mutations in innate immune system Nod2/Card15 and TLR-4 (Thr399Ile) genes influence the risk for severe acute graft-versus-host disease in patients who underwent an allogeneic transplantation. *Transplantation* 81: 247-254.

Elting LS, Rubenstein EB, Rolston KV, Bodey GP (1997). Outcomes of bacteremia in patients with cancer and neutropenia: observations from two decades of epidemiological and clinical trials. *Clinical Infectious Disease* 25: 247-259.

Feldmann J, Prieur A-M, Quartier P, Berquin P, Certain S, Cortis E (2002). Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome is caused by mutations in CIAS1, a gene highly expressed in polymorphonuclear cells and chondrocytes. *American Journal of Human Genetics* 71: 198-203.

Fianchi L, Leone G, Posteraro B, Sanguineti M, Guidia F, Valentinia CG, Vosoa MT, Pagano L (2012). Impaired bactericidal and fungicidal activities of neutrophils in patients with myelodysplastic syndrome. *Leukemia Research* 36: 331-333.

Forrest MS, Skibola CF, Lightfoot TJ, Bracci PM, Willett EV, Smith M (2006). Polymorphisms in innate immunity genes and risk of non-Hodgkin lymphoma. *British Journal of Haematology* 134: 180-3.

Fritz JH, Ferrero RL, Philpott DJ, Girardin SE (2006). Nod-like proteins in immunity, inflammation and disease. *Nature Immunology* 7: 1250-7.

Fritz JH, Le Bourhis L, Sellge G, Magalhaes JG, Fsihi H, Kufer TA, Collins C, Viala J, Ferrero RL, Girardin SE (2007). Nod1-mediated innate immune recognition of peptidoglycan contributes to the onset of adaptive immunity. *Immunity* 26: 445-459.

Girardin SE, Boneca IG, Carneiro LAM, Antignac A, Jehanno M, Viala J (2003). Nod1 detects a unique muropeptide from gram-negative bacterial peptidoglycan. *Science* 300:1584-1587.

Girardin SE, Boneca IG, Viala JR, Chamaillard M, Labigne MA, Thomas SG (2003). Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *Journal of Biological Chemistry* 278: 8869-8872.

Girardin SE, Tournebize R, Mavris M, Page AL, Li X, Stark GR (2001). CARD4/Nod1 mediates NF- κ B and JNK activation by invasive *Shigella flexneri*. *European Molecular Biology Organisation (EMBO) Reports* 2: 736-742.

Granell M, Urbano-Ispizua A, Arostegui JI (2006). Effect of NOD2/CARD15 variants in T-cell depleted allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 91: 1372-6.

Groll AH, Shah PM, Mentzel C, Schneider M, Just-Nuebling G, Huebner K (1996). Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital. *Journal of Infections* 33: 23-32.

Gruhn B, Intek J, Pfaffendorf N (2009). Polymorphism of interleukin-23 receptor gene but not of NOD2/CARD15 is associated with graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation in children. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 15: 1571-1577.

Gutierrez O, Pipaon C, Inohara N, Fontalba A, Ogura Y, Prosper F, Nunez G, Fernandez-Luna JL (2002). Induction of Nod2 in myelomonocytic and intestinal epithelial cells via nuclear factor-kappa B activation. *Journal of Biological Chemistry* 277: 41701-5.

Henckaerts L, Nielsen KR, Steffensen R, Van Steen K, Mathieu C, Giulietti A, Wouters PJ, Milants IRN, Vanhorebeek I, Langouche L, Vermeire, Séverine M, Rutgeerts P, Thiel S, Wilmer A, Hansen TK, Van den Berghe G (2009). Polymorphisms in innate immunity genes predispose to bacteremia and death in the medical intensive care unit. *Critical Care Medicine* 37: 192-201

Hoffman HM, Mueller JL, Broide DH, Wanderer AA, Kolodner RD (2001). Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. *Nature Genetics* 29: 301-5.

Hogan WJ, Letendre L, Litzow MR, Tefferi A, Hoagland HC, Pruthi RK, Kaufmann SH (2002). Neutropenic colitis after treatment of acute myelogenous leukemia with idarubicin and cytosine arabinoside. *Mayo Clinical Proceedings* 77: 760-2.

Holler E, Rogler G, Herfarth H, Brenmoehl J, Wild PJ, Hahn J, Eissner G, Schölmerich J, Andreesen A (2004). Both donor and recipient NOD2/CARD15 mutations associate with

transplant-related mortality and GvHD following allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 104: 889-94.

Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, Marr KA, Pfaller MA, Chang CH, Webster KM (2009). Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clinical Infectious Disease* 48: 1695-1703.

Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Bow EJ, Brown AE, Calandra T, Feld R, Pizzo A, Rolston KIV, Shenep JL, Young LS (2002). Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clinical Infectious Disease* 34: 730-751.

Hugot JP, Zaccaria I, Cavanaugh J, Yang H, Vermeire S, Lappalainen M, Schreiber S, Annese V, Jewell DP, Fowler EV, Brant SR, Silverberg MS, Cho J, Rioux JD, Satsangi J, Parkes M (2007). Prevalence of CAR2/NOD 2 Mutations in caucasian healthy People. *American Journal of Gastroenterology* 102:1259-1267.

Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J (2001). Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411: 599-603.

Huysamen C, Brown GD (2009). The fungal pattern recognition receptor, dectin-1, and the associated cluster of C-type lectin-like receptors. *Foundation of European Microbiology Societies (FEMS) Letters* 290: 121-8.

Huzarski T, Lener M, Domagala W, Gronwald J, Byrski T, Kurzawski G (2005). The 3020C allele of Nod2 predisposes to early-onset breast cancer. *Breast Cancer Research und Treatment* 89: 91-93.

Inohara N, Koseki T, Lin J, del Peso L, Lucas PC, Chen FF (2000). An induced proximity model for NF-kappa B activation in the Nod1/RICK and RIP signaling pathways. *Journal of Biological Chemistry* 275: 27823-31.

Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J (2003). Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through Nod2. *Journal of Biological Chemistry* 278: 5509-12.

Janeway CA Jr, Medzhitov R (2002). Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology* 20: 197-216.

Jin Y, Mailloux CM, Gowan K, Riccardi SL, LaBerge G, Bennett DC (2007). NALP1 in vitiligo-associated multiple autoimmune disease. *New England Journal of Medicine* 356: 1216-25.

Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, Lehmann S, Möllgard L, Stockelberg D, Tidefelt U, Wahlin A, Höglund M (2009). Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood* 113: 4179-4187

Kaparakis M, Turnbull L, Carneiro L, Firth S, Coleman HA, Parkinson HC (2010). Bacterial membrane vesicles deliver peptidoglycan to Nod1 in epithelial cells. *Cellular Microbiology* 12: 372-85.

Kaser A, Niederreiter L, Blumberg RS (2011). Genetically determined epithelial dysfunction and its consequences for microflora-host interactions. *Cellular and Molecular Life Sciences* 68: 3643-9.

Kern W, Behre G, v.Schilling (2003). Akute myeloische Leukämie (AML) beim Erwachsenen. *Manual Leukämien, myelodysplastische und myeloproliferative Syndrome* .17-44.

Kim EK, Choi E-J (2010). Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochem Biophys Acta-Mol Basis Dis* 1802: 396-405.

Kitley JL, Lachmann HJ, Pinto A, Ginsberg L (2010). Neurologic manifestations of the cryopyrin-associated periodic syndrome. *Neurology* 74: 1267-70.

Klostergaard A, Steffenson R, Moller JK, Peterslund N, Juhl-Christensen C, Molle I (2010). Sepsis in acute myeloid leukaemia patients receiving high-dose chemotherapy: no impact of chitotriosidase and mannose-binding lectin polymorphisms. *European Journal of Haematology* 85: 58-64.

Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nunez G, Flavell RA (2005). Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 307: 731-734.

Kobayashi K, Inohara N, Hernandez LD (2002). RICK/Rip2/ CARDIAK mediates signalling for receptors of the innate and adaptive immune systems. *Nature* 416: 194-9.

Koh AY, Köhler JR, Coggshall KT, Van Rooijen N, Pier GB (2008). Mucosal damage and neutropenia are required for *Candida albicans* dissemination. *PLoS Pathog* 4: e35.

Kontoyiannis DP, Chamilos G, Lewis RE, Giralt S, Cortes J, Raad II, Manning J, Han X (2007). Increased bone marrow iron stores is an independent risk factor for invasive aspergillosis in patients with high-risk hematologic malignancies and recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer* 110: 1303-1306.

Koppe U, Suttorp N, Opitz B (2012). Recognition of *Streptococcus pneumoniae* by the innate immune system. *Cellular Microbiology* 14: 460-466.

Kersse Kristof, Mathieu J, Bertrand M, Mohamed Lamkanfi, Peter Vandenabeele. NOD-like receptors and the innate immune system: Coping with danger, damage and death. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 22: 257-276.

Kubota T, Koike R (2010). Cryopyrin-associated periodic syndromes: background and therapeutics. *Modern Rheumatology* 20: 213-21.

Kuehnert MJ, Jernigan JA, Pullen AL, Rimland D, Jarwis WR (1999). Association between mucositis severity and vancomycin-resistant enterococcal bloodstream infection in hospitalized cancer patients. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 20: 660-3.

Kufer TA, Banks DJ, Philpott DJ (2006). Innate immune sensing of microbes by Nod-proteins. *Annals of New York Academy of Sciences* 1072:19-27.

Kumar H, Kawai T, Akira S (2009). Pathogen recognition in the innate immune response. *Biochemical Journal* 420: 1-16.

Lala S, Ogura Y, Osborne C, Hor SY, Bromfield A, Davied S, Ogunbiyi O, Nunez G, Keschav S (2003). Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterology* 125: 47-57.

Landfried K, Bataille F, Rogler G (2010). Recipient NOD2/ CARD15 status affects cellular infiltrates in human intestinal graft-versus-host disease. *Clinical and Experimental Immunology* 159: 87-92.

Lecat A, Piette J, Legrand-Poels S (2010). The protein Nod2: an innate receptor more complex than previously assumed. *Biochemical Pharmacology* 80: 2021-31.

Lee J, Tattoli I, Wojtal KA, Vavricka SR, Philpott DJ, Girardin SE (2009). pH-dependent internalization of muramyl peptides from early endosomes enables Nod1 and Nod2 signaling. *Journal of Biological Chemistry* 284: 23818-29.

Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM (2001). Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clinical Infectious Disease* 32: 358-366.

Link H. Infektionen bei Leukopenie (2004). *Der Onkologe* 10: 358-375

Link H, Maschmeyer G, Meyer P, Hiddemann W, Stille W, Helmerking M, Adam D (1994). Interventional antimicrobial therapy in febrile neutropenic patients. Study group of the Paul Ehrlich Society for Chemotherapy. *Annals of Hematology* 69: 231-243.

Lorenz E, Schwartz DA, Martin PJ (2001). Association of TLR4 mutations and the risk for acute GVHD after HLA-matched-sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 7: 384-7.

Maeda S, Hsu L, Liu H, Bankston LA, Iimura M, Kagnoff MF, Eckmann L, Karin M (2005). Nod2 mutation in Crohn's disease potentiates NF-kappaB activity and IL-1beta processing. *Science* 307: 734-8.

Marina-Garcia N, Franchi L, Kim Y-G, Hu Y, Smith DE, Boons GJ (2009). Clathrin- and dynamin-dependent endocytic pathway regulates muramyl dipeptide internalization and Nod2 activation. *Journal of Immunology* 182: 4321-7.

Martinon F, Burns K, Tschopp J (2002). The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Molecular Cell* 10: 417-426.

Martinon F, Mayor A, Tschopp J (2009). The inflammasomes: guardians of the body. *Annual Review of Immunology* 27: 229-265.

Maschmeyer G, Beinert T, Buchheidt D, Cornely OA, Einsele H, Heinz W, Heussel CP, Kahl C, Kiehl M, Lorenz J, Hof H, Mattiuzzi G (2009). Diagnosis and antimicrobial therapy of pulmonary infiltrates in febrile neutropenic patients. 2008 updated guidelines of the Infectious Diseases Working Party of the German Society of Hematology and Oncology. *European Journal of Cancer* 45: 2462-72.

Masters SL, Simon A, Aksentijevich I, Kastner DL (2009). *Horror aut inflammaticus*: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. *Annual Review of Immunology* 27: 621-68.

Mayor NP, Shaw BE, Madrigal JA, Marsh SG (2008). No impact of NOD2/CARD15 on outcome after SCT: a reply. *Bone Marrow Transplantation* 42: 837-8.

Mezger M, Einsele H, Loeffler J (2010). Genetic susceptibility to infections with *Aspergillus fumigatus*. *Critical Reviews in Microbiology* 36: 168-177.

Neumann S, Krause SW, Maschmeyer G, Schiel X, von Lilienfeld-Toal M (2013). Primary prophylaxis of bacterial infections and *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with haematological malignancies and solid tumors, Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Annals of Hematology* 92: 433-442.

Nischalke HD, Berger C, Aldenhoff K, Thyssen L, Gentemann M, Grünhage F, Lammert F, Nattermann J, Sauerbruch T, Spengler U, Appenrodt B (2011). Toll-like receptor (TLR)2 promoter and intron 2 polymorphisms are associated with increased risk for spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *Journal of Hepatology* 55: 1010-1016.

Noguchi E, Homma Y, Kang X, Netea MG, Ma X (2009). A Crohn's disease-associated Nod2 mutation suppresses transcription of human IL10 by inhibiting activity of the nuclear ribonucleoprotein hnRNP-A1. *Nature Immunology* 10: 471-9.

Nucci M, Marr KA (2005). Emerging fungal diseases. *Clinical Infectious Disease* 41: 521-526.

Nucci M, Anaissie E, Betts RF, Dupont DF, Wu C, Buell DN, Kovanda L, Lortholary O (2010). Early removal of central venous catheter in patients with candidemia does not improve outcome: analysis of 842 patients from 2 randomized clinical trials. *Clinical Infectious Disease* 51: 295-303.

Opitz B, Puschel A, Schmeck B, Hocke AC, Rosseau S, Hammerschmidt S (2004). Nucleotide-binding oligomerization domain proteins are innate immune receptors for

internalized *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Biological Chemistry* 279: 36426-36432.

Ottmann OG, Bug G, Krauter J (2007). Current status of growth factors in the treatment of acute myeloid and lymphoblastic leukemia. *Seminars in Hematology* 44: 183-92.

Pagano L, Antinori A, Ammassari A, Mele L, Nosari A, Melillo L, Martino B, Sanguinetti M, Equitani F, Nobile F, Carotenuto M, Morra E, Morace G, Leone G (1999). Retrospective study of candidemia in patients with hematological malignancies: clinical features, risk factors and outcome of 76 episodes. *European Journal of Haematology* 63: 77-85.

Pagano L, Caira M, Nosari A, Rossi G, Viale P, Aversa F, Tumarello M (2011). Etiology of febrile episodes in patients with acute myeloid leukemia: results from the Hema e-Chart Registry. *Archives of Internal Medicine* 171: 1502-1503

Pagano L, Caira M (2012). Risk for infections in Patients with myelodysplasia and acute leukämie. *Current Opinion in Infectious Diseases* 6: 612-18.

Pappas PG, Rotstein CM, Betts RF, Nucci M, Talwar D, De Waele JJ, Vazquez JA, Dupont BF, Horn DL, Ostrosky-Zeichner L, Reboli AC, Suh B, Digumarti R, Wu C, Kovanda LL, Arnold LJ, Buel DN (2007). Micafungin versus caspofungin for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis. *Clinical Infectious Diseases* 45: 883-93.

Penack O, Holler E, van den Brink MR (2010). Graft-versus-host disease: regulation by microbe-associated molecules and innate immune receptors. *Blood* 115: 1865-72.

Penack O, Rempf P, Graf B, Thiel E, Blau IW (2008). False-positive *Aspergillus* antigen testing due to application of piperacillin/tazobactam-is it still an issue? *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 60: 117-120.

Penack O, Smith OM, Cunningham-Bussel A, Liu X , Rao U, Yim N, Na IK, Holland AM, Ghosh A, Lu SX, Jenq RR, Liu C, Murphy GF, Brandl K, van den Brink MRM (2009). NOD2 regulates hematopoietic cell function during graft-versus-host disease. *Jornal of Experimental medicine* 28: 2101-10.

Perez L-H, Butler M, Creasey T, Dzink-Fox J, Gounarides J, Petit S (2010). Direct bacterial killing in vitro by recombinant Nod2 is compromised by Crohn's disease-associated mutations. *PLoS ONE* 6: e10915

Raad II, Hanna HA, Boktour M, Jabbour N, Hachem RY, Darouiche RO (2005). Catheter-related vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: clinical and molecular epidemiology. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 26: 658-661.

Reith W, Mach B (2001). The bare lymphocyte syndrome and the regulation of MHC expression. *Annual Review of Immunology* 19: 331-73.

Rescigno M, Nieuwenhuis EE (2007). The role of altered microbial signalling via mutant NODs in intestinal inflammation. *Current Opininion of Gastroenterology* 23: 21-26.

Rolston KV (2008). Review: daptomycin for the treatment of gram-positive infections in neutropenic cancer patients. *Clinical Advances in Hematology and Oncology* 6: 815-7.

Rolston KV (2009). New antimicrobial agents for the treatment of bacterial infections in cancer patients. *Hematology and Oncology* 27:107-14.

Ruhn M, Böhme A, Buchheidt D, Cornely O, Donhuijsen K, Einsele H, Enzensberger R, Hebart H, Heussel CP, Horger M, Hof H, Karthaus M, Krüger W, Maschmeyer G, Penack O, Ritter J, Schwartz S (2012). Diagnosis of invasive fungal infections in hematology and oncology-guidelines from the Infectious Diseases Working Party in Haematology and Oncology of the German Society for Haematology and Oncology (AGIHO). *Annals of Oncology* 23: 823-833.

Sabbah A, Chang TH, Harnack R, Frohlich V, Tominaga K, Dube PH, Xiang Y, Santanu B (2009). Activation of innate immune antiviral responses by Nod2. *Nature Immunology* 10: 1073-80.

Safdar A (2006). Strategies to enhance immune function in hematopoietic transplantation recipients who have fungal infections. *Bone Marrow Transplant* 38: 327-37.

Safdar A, Armstrong D (2001). Infectious morbidity in critically ill patients with cancer. *Critical Care Clinics* 17: 531-370.

Safdar A, Bodey G, Armstrong D (2011). Infections in patients with cancer overview. In: Safdar A, ed. *Principles and practice of cancer infectious diseases*, New York: Springer Science: 3-15.

Schaible UE, Kaufmann SH (2004). Iron and microbial infection. *Nature Reviews Microbiology* 2: 946-953.

Schaich M, Röllig C, Soucek S, Kramer M, Thiede C, Mohr B, Oelschlaegel U, Schmitz N, Stuhlmann R, Wandt H, Schäfer-Eckart K, Aulitzky W, Kaufmann M, Bodenstern H, Tischler H, Ho A, Krämer A, Bornhäuser M, Schetelig J, Ehninger G (2011). Cytarabine dose of 36 g/m² compared with 12 g/m² within first consolidation in acute myeloid Leukemia: Results of patients enrolled onto the randomized AML96 Study. *Journal of Clinical Oncology* 29: 2696-2702.

Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, Fröhling S, Corbacioglu A, Bullinger L, Habdank M, Späth, Morgan M, Benner A, Schlegelberger B, Heil G, Ganser A, Döhner H, for the German–Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group (2008). Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine* 358:1909-1918.

Schmid D, Pypaert M, Munz C (2007). Antigen-loading compartments for major histocompatibility complex class II molecules continuously receive input from autophagosomes. *Immunity* 26: 79-92.

Schröder K, Muruve DA, Tschopp J (2009). Innate immunity: cytoplasmic DNA sensing by the AIM2 inflammasome. *Current Biology* 19: R262-5.

Schröder K, Tschopp J (2010). The inflammasomes. *Cell* 140: 821-32.

Segal BH, Almyroudis NG, Battiwalla M, Herbrecht R, Perfect JR, Walsh TJ, Wingard JR (2007). Prevention and early treatment of invasive fungal infection in patients with cancer and neutropenia and in stem cell transplant recipients in the era of newer broad-spectrum antifungal agents and diagnostic adjuncts. *Clinical Infectious Diseases* 44: 402-9.

Shaw MH, Reimer T, Sanchez-Valdepenas C, Warner N, Kim Y-G, Fresno M, Nunez G (2009). T cell-intrinsic role of Nod2 in promoting type 1 immunity to *Toxoplasma gondii*. *Nature Immunology* 10: 1267-74.

Shaul DB, Scheer B, Rokhsar S, Jones VA, Chan LS, Boody BA, Malogolowkin MH, Mason WH (1998). Risk factors for early infection of central venous catheters in pediatric patients. *Journal of the American College of Surgeons* 186: 654-8.

Silva GK, Gutierrez FRS, Guedes PMM, Horta CV, Cunha LD, Mineo TWP, Santiago SJ, Kobayashi KS, Flavell RA, Silva JS, Zamboni DS (2010). Cutting edge: nucleotide-binding oligomerization domain 1-dependent responses account for murine resistance against *Trypanosoma cruzi* infection. *Journal of Immunology* 184: 1148-52.

Spanik S, Trupl J, Kunova A, Pichna P, Helpianska L, Ilavska I, Kukuckova E, Lacka J, Grausova S, Stopkova K, Drgona L, Krcmery V Jr. (1996). Bloodstream infections due to anaerobic bacteria in cancer patients: epidemiology, etiology, risk factors, clinical presentation and outcome of anaerobic bacteremia. *Neoplasma* 43: 235-8.

Squambato E (2005). Nosocomial sepsis and polymorphism of the NOD2 gene. *La Clinica terapeutica* 156: 7-10.

Tamura K, Fukuda Y, Sashio H, Takeda N, Bamba H, Kosaka T, Fukui S, Sawada K, Tamura K, Satomi M, Yamada T, Yamamura T, Yamamoto Y, Furuyama J, Okamura H, Shimoyama H (2002). IL18 polymorphism is associated with an increased risk of Crohn's disease. *Journal of Gastroenterology* 37: 111-6.

Tigno-Aranjuez JT, Asara JM, Abbott DW (2010). Inhibition of RIP2s tyrosine kinase activity limits Nod2-driven cytokine responses. *Genes and Development* 24: 2666-77.

Torok HP, Glas J, Tonenchi L, Mussack T, Folwaczny C (2004). Polymorphisms of the lipopolysaccharide-signaling complex in inflammatory bowel disease: association of a mutation in the Toll-like receptor 4 gene with ulcerative colitis. *Clinical Immunology* 112: 85-91.

Travassos LH, Carneiro LAM, Ramjeet M, Hussey S, Kim Y-G, Magalhaes JG, Juan L, Soares L, Chea E, le Bourhis L, Boneca IG, Allaoui A, Jones NL, Nunez G, Girardin SE, Philpott DJ(2010). Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasmamembrane at the site of bacterial entry. *Nature Immunology* 11: 55-62.

Turkoglu M, Mirza E, Tunccan OG, Erdem GU, Dizbay M, Yaqci M, Aygencel G, Türköz SG (2011). *Acinetobacter baumannii* infection in patients with hematologic malignancies in intensive care unit: risk factors and impact on mortality. *Journal of Critical Care* 26: 460-467.

Vallabhapurapu S, Karin M (2009). Function of NF- κ B transcription factors in the immune system. *Annual Review of Immunology* 27: 693-733.

van Heel DA, Ghosh S, Butler M, Hunt KA, Lundberg AM, Ahmad T, McGovern DP, Onnie C, Negro K, Goldthorpe S, Foxwell BM, Mathew CG, Forbes A, Jewell DP,

Playford RJ (2005). Muramyl dipeptide and toll-like receptor sensitivity in NOD2-associated Crohn's disease. *Lancet*.365:1794-1796.

Viala J, Chaput C, Boneca IG, Cardona A, Girardin SE, Moran AP (2004). Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. *Nature Immunology* 5: 1166-1174.

Villani AC, Lemire M, Fortin G, Louis E, Silverberg MS, Collette C, Baba N, Libioulle C, Belaiche J, Bitton A, Guadet D, Cohen A, Langelier D, Fortin PR, Wither JE, Sarfati M, Rutgeerts P, Rioux JD, Vermeire S, Hudson TJ, Franchimont D (2009). Common variants in the NLRP3 region contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nature Genetics* 41: 71-6.

Watanabe T, Asano N, Murray PJ, Ozato K, Tailor P, Fuss IJ, Kitani A, Strober W (2008). Muramyl dipeptide activation of nucleotide-binding oligomerization domain 2 protects mice from experimental colitis. *Journal of Clinical Investigations* 118: 545-559.

Watanabe T, Kitani A, Murray PJ, Strober W (2004). Nod2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type 1 responses. *Nature Immunology* 5: 800-8.

Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, Nuding S, Weichenthal M, Petras RE, Shen B, Schaeffeler E, Schwab M, Linzmeier R, Feathers RW, Chu H, Lima H Jr, Fellermann K, Ganz T, Stange EF, Bevins CL (2005). Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 102: 18129-34.

Werts C, Girardin SE, Philpott DJ (2006). TIR, CARD and PYRIN: three domains for an antimicrobial triad. *Cell Death and Differentiation* 13: 798-815.

Wilkins C, Gale Jr M (2010). Recognition of viruses by cytoplasmic sensors. *Current Opinion of Immunology* 22: 41-7.

Wong M, Öhrmalm L, Broliden K, Aust C, Hibberd M, Tolfvenstam T (2012). Mannose-binding lectin 2 polymorphisms do not influence frequency or type of infection in adults with chemotherapy induced neutropaenia. PLoS One 7: e30819

Wurfel MM, Gordon AC, Holden TD, Radella F, Strout J, Kajikawa O, Ruzinski JT, Rona G, Seth Stratton RA, Jarvik JP, Hajjar AM, Nickerson DA, Rieder M, Sevransky J, Maloney JP, Moss M, Martin G, Shanholtz C, Garcia JGN, Gao L, Brower R, Barnes KC, Walley KR, Russell JA, Martin TR (2008). Toll-like receptor 1 polymorphisms affect innate immune responses and outcomes in sepsis. American Journal of Respiratory and Critical Care Med 178:710-20.

Yang Z, Fuss IJ, Watanabe T, Asano N, Davey MP, Rosenbaum JT, Strober W, Kitani A (2007). NOD2 transgenic mice exhibit enhanced MDP-mediated down-regulation of TLR2 responses and resistance to colitis induction. Gastroenterology 133: 1510-1521.

Yu JR, Leslie KS (2010). Cryopyrin-associated periodic syndrome: an update on diagnosis and treatment response. Current Allergy and Asthma Reports 11: 12-20.

Zurawek M, Fichna M, Januszkiewicz-Lewandowska D, Gryczynska M, Fichna P, Nowak J (2010). A coding variant in NLRP1 is associated with autoimmune Addison's disease. Human Immunology 71: 530-4.

8 Anhang

8.1 Danksagung

Danken möchte ich Professor Dr. med. Andreas Hochhaus für die freundliche Unterstützung dieser Arbeit.

Herrn Privatdozent Dr. med. Sebastian Scholl gilt mein besonderer Dank für die Überlassung dieses Themas, die umfassende Unterstützung und die geduldige kompetente Betreuung bei der Erstellung der Publikation meiner Promotion.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. med. Tony Bruns für seine Unterstützung bei der Korrektur dieser Arbeit.

Bedanken möchte ich meiner Frau für das begleitende Beraten dieser Arbeit.

8.2 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich,

- dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität zu Jena bekannt ist,
- ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
- mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes unterstützt haben: PD Dr. med. Sebastian Scholl, Klinik für Innere Medizin II,
- die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen zu haben,
- dass Dritte weder mittelbar noch unmittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,
- dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena,

Olaposi Yomade

8.3 Tabellarischer Lebenslauf

I. Persönliche Daten

Olaposi Lawrence Yomade,

geb. am 17.01.1967, in Ile-Ife, Nigeria

Familienstand: verheiratet, 2 Kinder (geb. Okt. 2006, Feb. 2011)

II. Schulausbildung

1978-1983 Abitur- Anglican Grammar-School, Ile-Ife (Nigeria)

1986-1990 BSc. Physics - Obafemi Awolowo University, Ile-Ife (Nigeria)

1993-1994 Deutschkurs an der Gesamthochschule Essen

III. Medizinstudium

1998-2004 Studium der Humanmedizin an der LMU, München

04/2000 Ärztliche Vorprüfung

04/2001 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung

04/2003 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

04/03-08/03 Praktisches Jahr am Universitätsklinikum München, LMU-Großhadern): Innere Medizin

08/03-12/03 Praktisches Jahr am akademischen Lehrkrankenhaus Harlaching, München : Chirurgie

12/03-03/04 Praktisches Jahr am akademischen Lehrkrankenhaus Neuperlach, München: Gynäkologie

21.04.2004 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

IV. Facharztausbildung

seit 05/05 Klinik für Innere Medizin II, Abteilung für Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinikum Jena.

Mai 2012 Facharzt für Innere Medizin